

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

**Vergleich der systemischen Konzentration von MMP-8 und Surfactant
Protein D vor und nach der nicht-chirurgischen Therapie der
chronischen Parodontitis**

Dissertation zum Erwerb
des Doktorgrades der
Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Petra Sophie Volz, geb. Hofmann aus Bad Tölz
2020

Mit Genehmigung der Zahnmedizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Matthias Folwaczny

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Johannes Randzio

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. dent. Christina Ern

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 21.09.2020

*Gewidmet meinen Eltern
& Alexander*

*„Die Entfernung ist unwichtig.
Nur der erste Schritt ist wichtig.“
Marquise du Deffand (1697-1780)*

Inhalt

1	Einleitung	7
1.1	Epidemiologie	7
1.2	Pathogenese	7
1.3	Parodontalpathogene Bakterien	9
1.4	Surfactant Protein-D	11
1.5	Matrix-Metalloproteinase-8	12
1.6	Epidemiologische Risikofaktoren	14
1.6.1	Rauchen	14
1.6.2	Diabetes mellitus	14
1.7	Befunde	15
1.7.1	Sondierungstiefen	15
1.7.2	Bleeding on Probing (BOP)	16
1.7.3	Röntgen	16
1.7.4	Mikrobiologische Diagnostik	17
1.7.5	Plaque-Index	17
1.7.6	Diagnose	18
1.7.7	Therapie	18
2	Zielsetzung	21
3	Material und Methoden	22
3.1	Auswahl der Studienpopulation	22
3.2	Einteilung der Stadien	22
3.2.1	Untersuchungsgruppe	22
3.2.2	Ausschlusskriterien	23
3.3	Vorgehensweise zur Untersuchung	24
3.3.1	Gewinnung der Proben	24
3.3.2	Verarbeitung der Proben	25

3.3.3	ELISA	25
3.3.4	Polymerase Chain Reaction (PCR).....	31
3.3.5	Isolation der pathogenen Bakterien	32
3.4	Statistische Auswertung der Ergebnisse.....	36
4	Ergebnisse	37
4.1	Tatsächliche Studienpopulation.....	37
4.2	Ergebnisse der klinischen Untersuchung.....	38
4.2.1	Ergebnisse Sondierungstiefen	38
4.2.2	Ergebnisse Blutung nach Sondierung, BOP	40
4.2.3	Ergebnisse Plaque-Index.....	42
4.2.4	Parodontalpathogene Bakterien	44
4.2	Quantifizierung der Markermoleküle	47
4.2.1	Ergebnisse SP-D	47
4.2.2	Ergebnisse MMP-8	50
4.3	Korrelationsanalysen	52
4.3.1	Auswertung der klinischen Parameter	52
4.3.2	Auswertung der Biomarker.....	53
4.3.3	Auswertung der Infektion durch pathogene Bakterien	53
4.3.4	Auswertung der Einzelgruppen.....	53
5	Diskussion	54
5.1	Diskussion der Methoden	54
5.1.1	Auswahl der Studienpopulation.....	54
5.1.2	Therapie	54
5.1.3	Zeitintervall der Bestimmung	54
5.2	Eignung SP-D als Biomarker	55
5.3	Eignung MMP-8 als Biomarker	56
5.4	Diskussion der Ergebnisse.....	57

6	Zusammenfassung	63
7	Literaturverzeichnis.....	64
8	Abbildungsverzeichnis	83
9	Tabellenverzeichnis	85
10	Abkürzungsverzeichnis.....	86
11	Anhang	88
11.1	Anleitung zur Probenentnahme	88
11.2	Informationsblatt für Patienten.....	90
11.3	Einverständniserklärung	93
11.4	Datenschutz	93
12	Danksagung	95
13	Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
14	Eidesstattliche Versicherung.....	96

1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit bezieht sich in Terminologie und Therapie auf die Grundlagen der Parodontologie bis 2018. Die neue Klassifikation seit Juni 2018 ist hierbei noch nicht berücksichtigt, da der klinische Teil der Studie sowie die Auswertung im Zeitraum der vorherigen Richtlinien lagen [1].

1.1 Epidemiologie

Die Parodontitis bezeichnet eine bakterielle entzündliche Infektionserkrankung des Zahnhalteapparats [2]. Sie gilt als die weltweit häufigste chronische Erkrankung bei Erwachsenen [3] [4]. Trotz rückläufiger Zahlen in aktuellen Erhebungen, sind nach wie vor ca. 52% der jüngeren Erwachsenen und ca. 65% der jüngeren Senioren in Deutschland von einer Parodontitis betroffen [5]. Der Verlust von bindegewebigem Attachment und der dadurch ausgelöste Abbau des zahntragenden Knochens sind typische Symptome [6]. Die dauerhafte und meist irreversible Schädigung des Zahnhalteapparats durch eine anhaltende schwere Parodontitis kann bis zum vollständigen Zahnverlust führen [7]. Die Parodontitis wirkt zudem negativ auf systemische Vorgänge im gesamten Organismus [8]. Daraus entstehen Folgerisiken für z.B. kardiovaskulären Erkrankungen [9] [10] [11] oder Diabetes mellitus Typ 2 [12] [13] [14] [15]. Zudem wirkt sich eine Parodontitis negativ auf Schwangerschaften aus [16] [17] [18] [19] [20] [21] und kann Frühgeburten [18] [19] [20] sowie Untergewicht bei Neugeborenen begünstigen [4] .

1.2 Pathogenese

Die gesunde Mundflora zeichnet sich vorrangig durch grampositive und fakultativ anaerobe Bakterien aus [22]. Von den über 700 bekannten Bakterien, die in der Mundhöhle vorkommen [23] [24], werden nur einige als parodontalpathogen klassifiziert [25] [26] [27] [28]. Im gesunden Organismus befinden sich destruktive und regenerative Gewebeprozesse in einem Gleichgewicht [29]. Die Fähigkeiten pathogener Bakterien, der Wirtsabwehr auszuweichen und vermehrt gewebedestruktive Substanzen zu produzieren, stören die Homöostase und lassen ein insgesamt pathogenes Milieu entstehen [25].

Wesentliche Ursache für die Manifestation einer pathogenen Infektion ist die unzureichende Entfernung der bakteriellen Plaque [30]. Es verbindet sich die verbleibende Plaque mit Mineralien aus dem Speichel und aktive bakterielle Prozesse zu Zahnstein und subgingivalen

Konkrementen [31]. Der gebildete Zahnstein bietet eine ideale Grundlage für die Adhäsion weiterer pathogener Bakterien. Kommen zusätzliche inflammatorisch wirkende oder begünstigende Faktoren hinzu, wie z.B. Rauchen oder anhaltender Stress, steigt das Risiko einer Parodontitis ab diesem Punkt stetig an. Hat sich das bakterielle Milieu zu Gunsten der pathogenen Bakterien verschoben, so wächst das Risiko zur Entstehung einer Parodontitis [32]. Die Verhinderung dieser Milieuverschiebung durch ausreichende Mundhygiene gilt daher als wirksame Prophylaxe der Parodontitis [33].

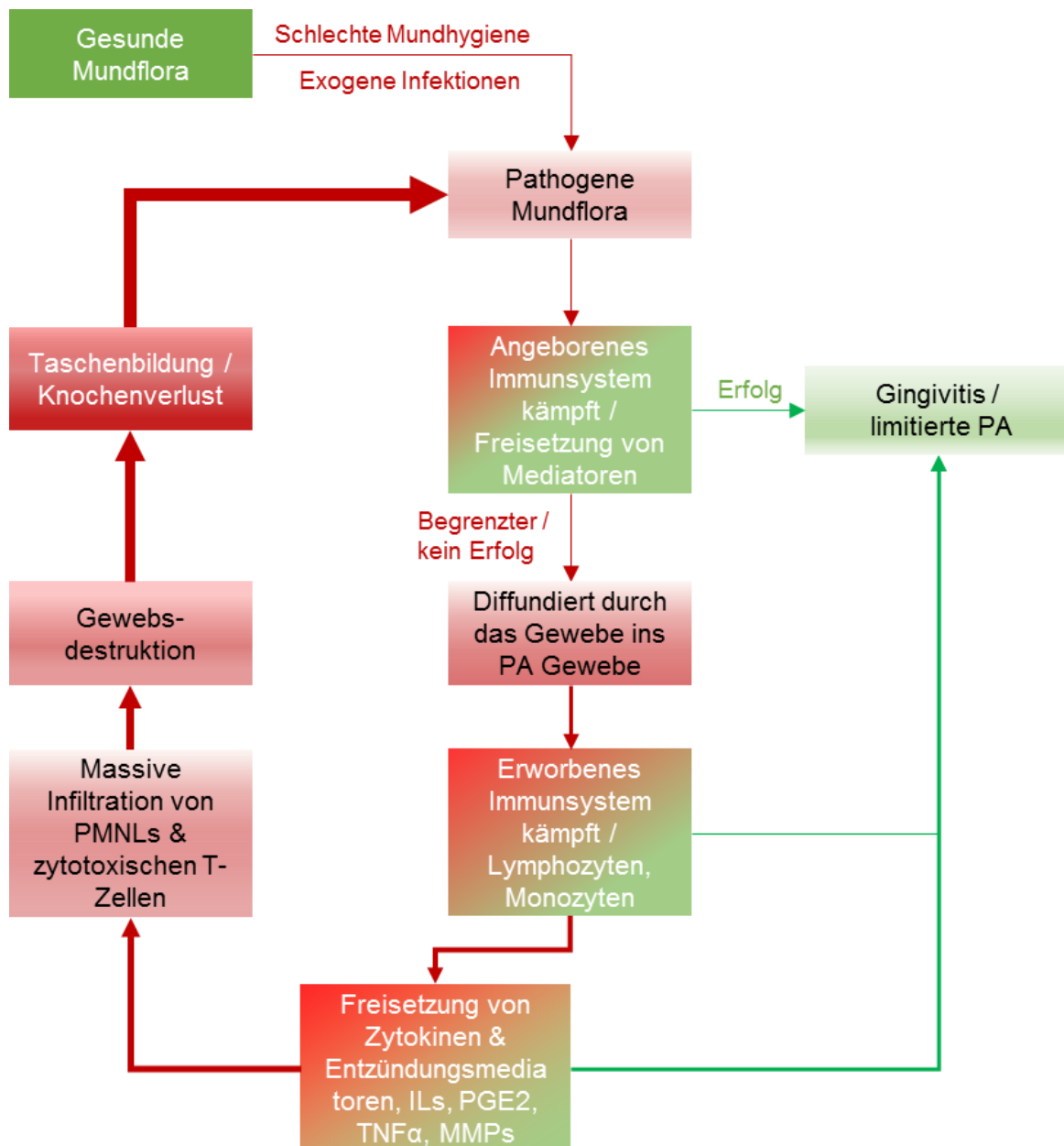


Abb. 1: modifiziertes "critical pathway modell" nach Salvi et al., 1997 Abbildung modifiziert erstellt nach [34]

Der Verlauf und Schweregrad einer marginalen Parodontitis hängt von einer Vielzahl von Einflussfaktoren ab. Eine Parodontitis verläuft üblicherweise langsam und schubweise [35] [36]. In der chronischen Form der marginalen Parodontitis wird ihre Ausbreitung in eine lokalisierte (weniger als 30% der Zähne) und eine generalisierte (mehr als 30% der Zähne) Form unterschieden. Zusätzlich werden beide Varianten in drei (leicht, moderat, schwer) Schweregrade eingeteilt [37] [38].

1.3 Parodontalpathogene Bakterien

Der Weg von einer gesunden zu einer pathogenen Mundflora wird von den Brückenbakterien *Parvimonas micra* (P.m.), *Prevotella intermedia* (P.i.) sowie *Fusobacterium nucleatum* (F.n.) bereitet. Diese Mikroorganismen erzeugen durch ihre Stoffwechselprodukte eine spezielle ökologische Nische [39] für die pathogenen Bakterien [26]. Die Besiedelung der Bakterien lässt sich in Früh- und Spätbesiedler unterteilen [40].

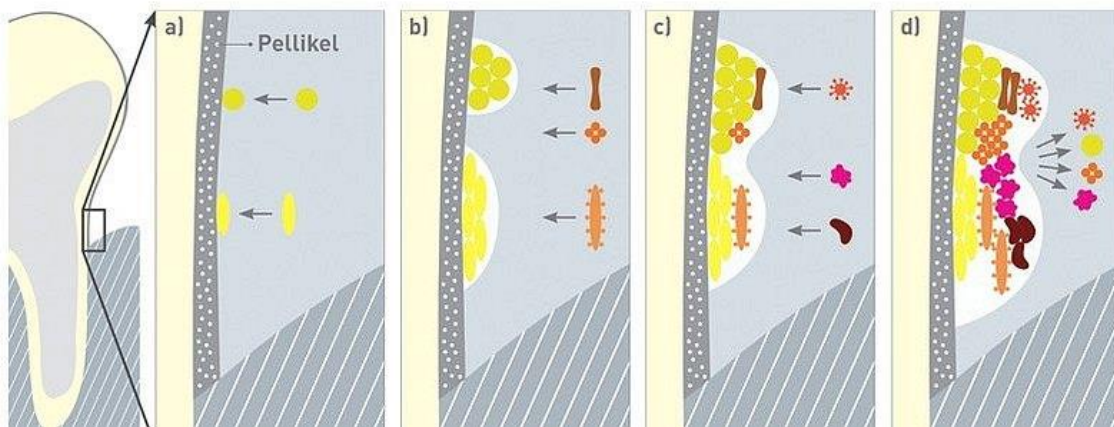


Abb. 2: Ausbildung des dentalen Biofilms. a) Frühkolonisierer heften sich mittels Fimbrien an die Pellikel an. b) Die Bakterien vermehren sich, produzieren die Matrix und bilden so Mikrokolonien. Gleichzeitig integrieren sich weitere Brückenspezies. c) Stark pathogene Bakterien des Roten Komplexes und *A. actinomycetemcomitans* binden an den Biofilm. Dieser wächst weiter und reift. d) Biofilmreifung endet in einer „Climax Community“. Bakterien lösen sich aus dem Biofilm und besiedeln weitere Zahnflächen. [41]

Bei einer Parodontitis dominieren die gramnegativen anaeroben Bakterien [42] [43], die durch spezifische Virulenzfaktoren [44] stark gewebedestruktiv wirken [45] [46]. In Folge dieser Prozesse bildet sich vermehrt Exsudat im gingivalen Sulkus, wodurch u.a. verstärkt neutrophile Granulozyten einwandern. Diese wiederum bewirken die Expression und Aktivierung weiterer gewebedestruktiver Enzyme [47]. Gemäß der Komplex-Theorie von Socransky sind bei der Entstehung einer Parodontitis besonders der rote und orangene

Komplex von Bedeutung. Der rote Komplex umfasst die Bakterien *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Tannerella forsythia* (T.f.) und *Treponema denticola* (T.d.), welche als stark assoziiert mit einer Parodontitis gelten [48] [49] [50] [51] [52] [53]. Im orangefarbenen Komplex finden sich P.m. und P.i. sowie F.n., der als Brückenkeim fungiert. Das Bakterium *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ist ein bewegliches, fakultativ anaerobes gramnegatives Stäbchen und bildet einen eigenen Komplex [54] [26]. Die am meisten pathogenen Vertreter der Parodontitis verursachenden Bakterien sind A.a. und P.g. [55] [56] [57] [58] [59].

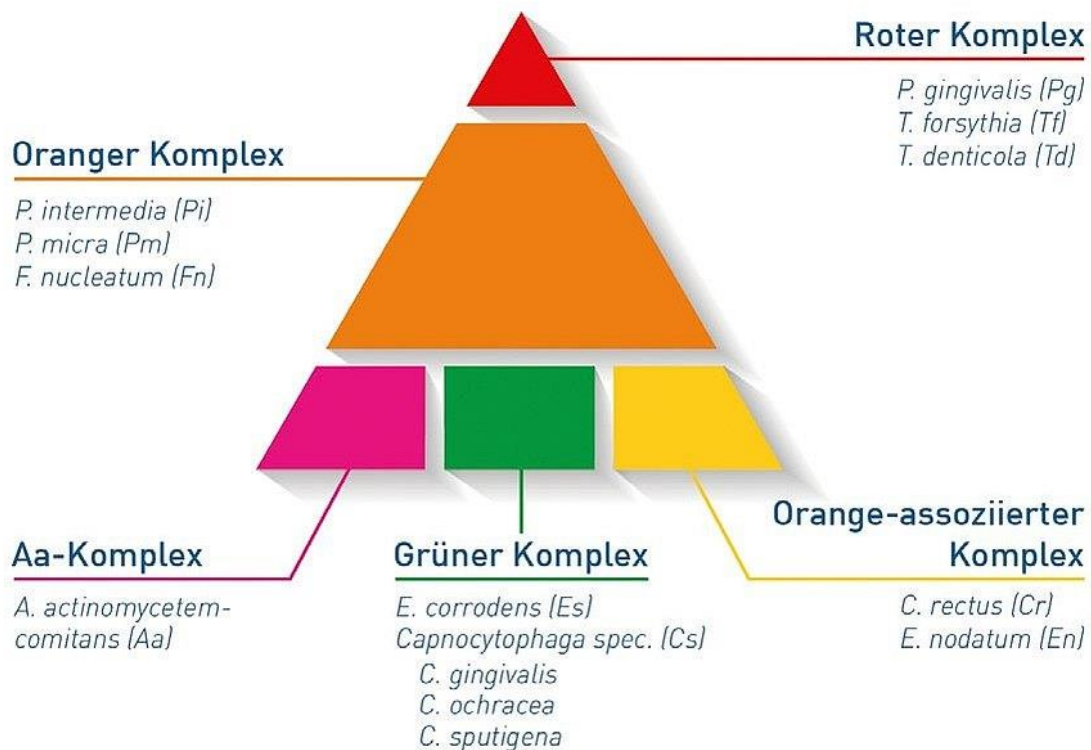


Abb. 3: Bakterienkomplexe nach Socransky. Basierend auf dem gemeinsamen Vorkommen und der Interaktion bestimmter Bakterienspezies werden die MarkerBakterien zu Komplexen zusammengefasst. [26] Abbildung übernommen aus [60]

A.a. kann in mindestens fünf verschiedenen Serotypen vorliegen und verstoffwechselt vor allem kurzkettige Kohlehydrate wie Fruktose, Glukose und Maltose [61]. Durch die Expression von Leukotoxinen greift A.a. aktiv die Leukozyten und damit das körpereigene Immunsystem an und behindert die Abwehr der entzündlichen Prozesse einer Parodontitis [62] [63]. P.g. ist ein immobiles, gramnegatives und anaerobes Stäbchen. Es kommt vor

allem in tieferen Parodontaltaschen vor. Seine Fimbrien befördern die weitere Anhaftung von pathogenen Bakterien und somit die Bildung des Biofilms. Des Weiteren ist P.g. in der Lage, in die Epithelzellen der Gingiva und in Fibroblasten einzudringen. Dadurch entzieht es sich dem Zugriff durch das Immunsystem [64]. Durch diese und weitere Eigenschaften wird P.g. als Schlüsselkeim in der Entstehung einer Parodontitis angesehen [65]. Dies drückt sich unter anderen in der Koaggregation mit F.n. aus. Kommen beide Bakterien zusammen im Biofilm vor, führt das zu einem verstärkten alveolaren Knochenverlust [66] [67]. F.n. zeigt seine Eigenschaft als Brückenkeim u.a. durch eine weitere Koaggregation mit T.f., wodurch es zu einem verstärkten Aufbau des gemischten Biofilms kommt [68].

1.4 Surfactant Protein-D

Derzeit sind die surfactant-Proteine A bis D bekannt, die alle Teil des angeborenen Immunsystems sind [69]. Biochemisch bestehen alle surfactant-Proteine A-D zu 90% aus Lipiden und aus 10% Proteinen, wobei ein kleiner Teil von Serumproteinen die spezifische Ausprägung der surfactant-Proteine bestimmt [70]. Das surfactant-Protein-D (auch Surfactant Faktor-D genannt, kurz SP-D) ist ein C-Typ-Lectin und als Collectin in die angeborene Immunabwehr involviert [71] [72] [73]. So hat SP-D die Fähigkeit, ein großes Spektrum von u.a. Viren, Bakterien und Pilzen über ihre Kohlehydrate erkennende Domäne (CRD) zu binden und mittels Phagozytose die intrazelluläre Lyse zu forcieren [74] [75]. Das SP-D wird vorrangig von den Pneumozyten Typ II und von Clara-Zellen produziert. SP-D ist jedoch nicht nur im pulmonalen Gewebe aktiv, sondern wird u.a. auch von der Parotis und der Glandula submandibularis sezerniert und kann auch im Blut (Plasma und Serum) sowie den nasalen und oralen Schleimhäuten nachgewiesen werden [76] [77] [74] [78] [79]. Dort übernehmen sie ebenso immunologische Aufgaben und wirken entzündlichen Prozessen entgegen [73]. Die gesunde Gingiva produziert Surfactant-Proteine A-D, die im Fall einer gingivalen Erkrankung ein verändertes Aktivitätsmuster aufweisen [80]. Im Fall einer bakteriellen Entzündung des Parodontiums kommt es zu erhöhter Aktivität insbesondere am Zahnfleischsaum. Dadurch soll die Funktion der antimikrobiellen Substanzen im Speichel unterstützt werden. So verstärkt SP-D durch Bindung an Makrophagen deren Chemotaxis-Verhalten und hat unmittelbaren Einfluss auf T-Lymphozyten und die Ausschüttung der Zytokine bzw. anderer proinflammatorischer Mediatoren [81] [82]. Die spezifische Aufgabe von SP-D als Teil der angeborenen Immunabwehr lässt es als diagnostischen Biomarker erscheinen, um entzündliche Prozesse

zu entdecken [75]. So konnte die Eignung von SP-D im Blut als Biomarker für kardiovaskuläre und Nierenerkrankungen bestätigt werden [83] [84]. Speziell für den Zusammenhang mit einer Parodontitis konnte bereits in einer ersten Studie gezeigt werden, dass die Konzentration von SP-D im Plasma von Parodontitis Patienten deutlich höher liegt als bei gesunden Kontrollindividuen [78]. In einer weiteren Studie mit eineiigen Zwillingspaaren konnte gezeigt werden, dass die Konzentration von SP-D unter den Kriterien Alter, Raucherstatus und männliches Geschlecht grundsätzlich erhöht sind [85].

1.5 Matrix-Metalloproteinase-8

Die Matrix-Metalloproteinase-8 (MMP-8 oder auch Kollagenase-2 genannt) gehört zur Gruppe der Kollagenasen und bezeichnet ein spezifisches Enzym, das zum Abbau der Kollagenstrukturen innerhalb des Parodontiums beiträgt und so zum parodontalen Attachmentverlust führt [86] [87]. Im Allgemeinen bezeichnen Proteinasen Enzyme, deren Haupteigenschaft darin besteht, Peptidbindungen innerhalb von Proteinen hydrolytisch in einzelne Fragmente aufzuspalten. Der Zusatz „Metallo“ klassifiziert eine Proteinase (Synonyme: Proteasen, Peptidasen), für deren Aktivität ein Metallion (meistens Zink) erforderlich ist. So spaltet MMP-8 unter anderem die Proteine innerhalb der extrazellulären Matrix und des alveolären Knochens [88]. Einige dieser Prozesse sind Teil der physiologischen Homöostase und gehören zum normalen Gewebeumbau wie er auch bei anderen biologischen Prozessen (u.a. Morphogenese, Wundheilung, Angiogenese) auftritt [89] [90] [91] [92] [93]. Im Rahmen dieses Gleichgewichts wirken TIMPs (*tissue inhibitors of metalloproteinases*) regulierend auf die Abbauaktivität der MMPs [94]. Andere dieser Vorgänge sind entzündungsinduziert und wirken in der Summe gewebedestruktiv [91].

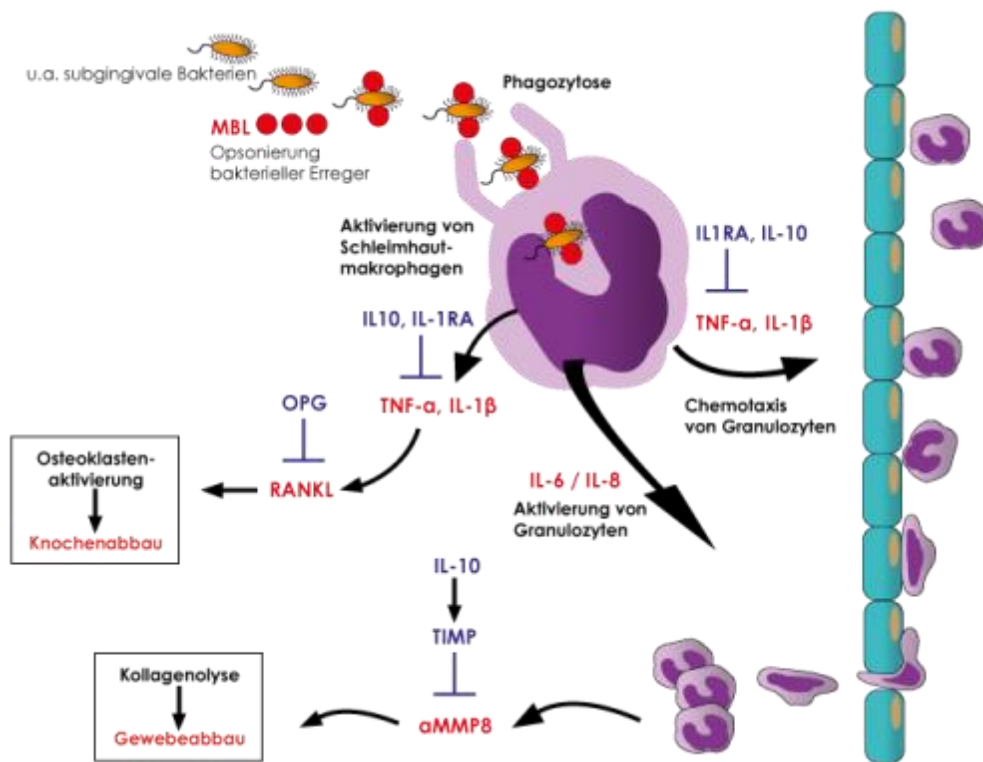


Abb. 4: Verlauf der parodontalen Entzündungsantwort durch das Verhältnis pro- und antientzündlicher Zytokine. Erkennung und Phagozytose der parodontopathogenen Bakterien wird unterstützt durch die Beladung der Bakterien mit körpereigenen Opsoninen (IgA, MBL, etc). Abbildung übernommen aus [95]

Die Migration neutrophiler Granulozyten spielt eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung u.a. von MMP-8 [47] [96]. MMP-8 wird u.a. durch Kathepsin von der Pro-Form in die aktive Form überführt. Sobald die MMP-8 durch Entzündungsprozesse aktiviert wurde, spricht man von der aktivierten MMP-8 (aMMP-8). Die Zerstörung von Bindegewebe durch aMMP-8 ist demnach das Ergebnis einer Entzündungskaskade, wie sie bei einer Parodontitis stattfindet. Aus diesem Grund gilt der Nachweis von MMP-8 bzw. aMMP-8 in der Sulkusflüssigkeit als ein Indikator in der Parodontitis-Diagnostik [97] [98]. Im Rahmen der Diagnose der Parodontitis ist der frühe Nachweis von MMP-8 von Bedeutung, um die Gewebedestruktion zu stoppen. Diese Notwendigkeit ist bei Rauchern nochmals verstärkt gegenüber Nichtrauchern [99].

Bisherige Studien haben sich vor allem auf den Nachweis von (a)MMP-8 in der Sulkusflüssigkeit bzw. im Speichel konzentriert [100] [101] [102]. Hier hat sich (a)MMP-8 als Biomarker im Zusammenhang mit der Parodontitis als geeignet erwiesen [88] und eine signifikante Reduktion des MMP-8-Levels nach der Therapie der Parodontitis ist nachweisbar [103] [104]. Die Analyse von MMP-8 im Blut in Verbindung mit Parodontitis

erfolgt meist vor dem Hintergrund der Wechselwirkungen mit kardiovaskulären Erkrankungen [105] [106].

1.6 Epidemiologische Risikofaktoren

1.6.1 Rauchen

Rauchen gilt als einer der wesentlichen Risikofaktoren zur Entstehung einer Parodontitis [107] [108] [109]. Durch die über 4700 giftigen und teils krebserregenden chemischen Verbindungen [110] [111] im inhalierten Rauch verringert sich u.a. die Durchblutung des Gewebes deutlich [112], zusätzlich werden die gingivalen Fibroblasten geschädigt [111]. Zudem wird die subgingivale Besiedelung mit pathogenem Biofilm begünstigt [113]. Dadurch entsteht ein doppeltes Problem in Bezug auf die Parodontitis. Einerseits wird durch die Beeinträchtigung der körpereigenen Immunabwehr die Parodontitis begünstigt [114]. Andererseits wird das Zahnfleischbluten maskiert [112]. Damit zeigt sich das Parodont eines Rauchers scheinbar gesünder als es tatsächlich ist. Das Ergebnis einer Parodontitistherapie ist bei Rauchern signifikant schlechter als bei Nichtrauchern [115] [116]. So zeigen sich u.a. verzögerte und unvollständige Heilungsprozesse [117]. Raucher verlieren deutlich früher ihre Zähne [118]. Wie eine aktuelle Langzeitstudie mit über 23.000 Teilnehmern aus 2015 deutlich zeigt, hat ein männlicher Raucher ein bis zu 3,6fach erhöhtes Risiko einen vorzeitigen Zahnverlust zu erleiden [119]. Auch nach Aufgabe des Rauchens dauert es ca. 10 Jahre, bis das Zahnverlustrisiko wieder dem eines Nichtrauchers entspricht [119].

1.6.2 Diabetes mellitus

Die bekannteste Wechselwirkung mit der marginalen Parodontitis weist der Diabetes mellitus Typ 2 auf. Laut World Health Organisation (WHO) leiden weltweit 422 Millionen Menschen an Diabetes mellitus Typ 2 [120], allein in Deutschland sind ca. 6 Mio. Menschen erkrankt [121]. Die chronische Hyperglykämie, hervorgerufen durch die gestörte Insulinproduktion bzw. -wirkung, begünstigt proinflammatorische Prozesse, die das Risiko einer Parodontitis verdreifacht [122]. Die systemische Verbreitung der PA-Bakterien wiederum erhöht die Insulinresistenz des Gewebes [123] wodurch sich eine schlechtere glykämische Kontrolle ergibt. Dadurch erschwert die Parodontitis die glykämische Einstellung des Diabetes mellitus Typ 2 [124] [125]. Aktuelle Studien weisen einen direkten Zusammenhang zwischen dem Fortschreiten einer Parodontitis und der Erhöhung des HbA1c-Wertes nach [12] [13] [14] [15]. Umgekehrt wird die gewebedestruktive

Auswirkung im Knochen durch eine Parodontitis durch einen zusätzlichen Diabetes mellitus Typ 2 noch beschleunigt [126] [127], so dass Zahnverluste früher drohen bzw. das Zeitfenster kleiner wird, in dem irreversible Schäden abgemildert werden können. Zusätzlich haben Patienten mit Diabetes eine schlechtere Wundheilung, sodass bei diesen Patienten die parodontalpathogenen Bakterien nach z.B. einer Zahnextraktion einen leichteren Zugang zum kardiovaskulären System haben und schneller hämatogen streuen können [128] [129] [130].

Studien legen nahe, dass es keinen signifikanten Unterschied im Parodontium eines gesunden Menschen gegenüber einem gut eingestellten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 gibt [131] [132] [133]. Der Weltdiabetestag empfiehlt daher, die Behandlung von Parodontitis als integralen Bestandteil der zahnärztlichen Vorsorge und der Behandlung von Diabetes mellitus Typ 2 zu berücksichtigen [134] [135]. Neben den direkten Wechselwirkungen bedeutet eine Parodontitis für den Diabetiker zudem ein erhöhtes Risiko hinsichtlich möglicher Spätkomplikationen. So treten bei Diabetikern mit einer Parodontitis diabetische Nephropathien zwischen 2-2,6-fach häufiger auf, als bei Diabetikern ohne Parodontitis [136] [137]. Weitere Folgen von Diabetes mellitus Typ 2 wie Retinopathien, Neuropathien oder diabetische Fußsyndrom werden durch die Auswirkungen einer Parodontitis negativ beeinflusst [138] [139]. Allgemein kann festgestellt werden, dass der Schweregrad einer Parodontitis den Krankheitsverlauf eines Diabetes mellitus Typ 2 direkt beeinflusst [137]. Es wird davon ausgegangen, dass die konsequente Therapie der Parodontitis zu einer Reduktion des HbA1c-Wertes um 0,4 bis 0,8 Prozentpunkte führt [131] [140]. Die Senkung des HbA1c-Wertes ist für den Diabetiker essentiell, um das Risiko weiterer Folgeerkrankungen zu minimieren. So zeigten die Ergebnisse einer der größten Studien zur Therapie des Diabetes mellitus Typ 2, dass pro 1%-iger Senkung des HbA1c-Wertes das Risiko der diabetischen Komplikationen, wie z.B. diabetesbezogene Todesfälle, Herzinfarkte, Schlaganfälle u.a., um ca. 20% gesenkt wird [141] [142].

1.7 Befunde

1.7.1 Sondierungstiefen

Der gingivale Sulkus bzw. die parodontale Tasche werden vom Gingivarand nach apikal bis zur koronalsten Ausdehnung des Gingivaansatzes gemessen. Die Tiefe der

Zahnfleischtasche gibt einen ersten Aufschluss über den klinischen Attachmentverlust und damit den Fortschritt der Parodontitis. Zur Bewertung werden die Sondierungstiefen mit einer metrischen Sonde erhoben. Dabei soll die Sonde mit einer Kraft von 0,2 – 0,3 N parallel zur Zahnachse zwischen Gingiva und Zahnoberfläche geführt werden, bis der Sondierungsdruck und der Gewebedruck sich die Waage halten [143]. Zur Messung wurde an sechs Stellen je Zahn die Sondierungstiefe ermittelt.

- Sondierungstiefe bis zu 3 mm gelten als gesund
- Sondierungstiefe ab 3 bis 5 mm sind Anzeichen für eine mittelschwere PA
- Sondierungstiefe von 6 mm oder mehr sind Anzeichen für eine schwere PA



Abb. 5: Sondierung des Sulkus bei verschiedenen Stadien von Parodontopathien. Abbildung übernommen aus [144]

1.7.2 Bleeding on Probing (BOP)

Durch die Untersuchung wird die Blutungsneigung der PA-Tasche nach Sondierung (BOP, bleeding on probing) bestimmt. Neben der reinen Gingivitis ist die Blutungsneigung ein klares Entzündungszeichen.

1.7.3 Röntgen

Eine der Folgen der Parodontitis ist die Destruktion von Knochengewebe des zahntragenden Alveolarfortsatzes. Der Grad des Knochenabbaus wird durch radiologische Untersuchungsverfahren bestimmt. Durch ein Orthopantomogramm (OPG) (Panoramaschichtaufnahme; PSA) gewinnt man eine vollständige Übersicht des Kieferknochens (Unterkiefer und Oberkiefer). Dabei handelt es sich um eine zweidimensionale Darstellung der Gewebestrukturen. Idealerweise stellt ein OPG die Kiefergelenke, Alveolarfortsätze beider Kiefer, Kieferhöhlen und alle vorhandenen Zähne dar.

Alternativ besteht die Möglichkeit die vollständige Dentition durch eine Serie von Einzelaufnahmen mit 6-14 Zahnfilmen darzustellen. Damit wird der sogenannte Röntgenstatus erhoben. Im Allgemeinen wird jedoch das OPG aufgrund der geringeren Strahlenbelastung angewandt, und bei Bedarf durch zusätzliche Zahnfilme ergänzt.

Folgende parodontale Befunde werden üblicherweise erhoben:

- horizontaler Knochenabbau
- vertikaler Knochenabbau
- Furkationsbeteiligung an mehrwurzeligen Zähnen
- Knochendefekte
- erweiterter Parodontalspalt

1.7.4 Mikrobiologische Diagnostik

Diese Form der Untersuchung ist kein Standardverfahren im Rahmen einer parodontalen Befunderhebung. Vielmehr ergänzt dieses Verfahren die klinischen Untersuchungen in bestimmten Fällen, in denen die Kenntnis über eine pathogene Infektion Einfluss auf die Therapie haben kann. So kann ein spezifisch wirksames Antibiotikum gewählt werden, was zudem einer Resistenzbildung vorbeugt [145] [146] [147] [148]. Die alleinige antibiotische Therapie zeigt nur begrenzte Wirkung in der PA-Therapie, da die Biofilm-Struktur ein Eindringen und damit nachhaltige Wirkung der Antibiotika verhindern [145] [149] [150].

Folgende Indikationen für mikrobiologische Untersuchungen gelten als Empfehlung [151]:

- aggressive Parodontitis
- schwere chronische Parodontitis
- Parodontitis, bei der sich trotz Therapie ein progredienter Attachmentverlust zeigt

Durch die mikrobiologische Untersuchung werden die bereits in der parodontalen Tasche vorhandenen Bakterien bestimmt.

1.7.5 Plaque-Index

Die Stärke des Plaquebefalls spiegelt die Qualität der Mundhygiene wider. Nicht entfernte mikrobielle Zahnbeläge bilden die pathogene Grundlage nicht nur für Karies, sondern auch für eine Gingivitis und für eine Parodontitis. Da sich mit zunehmender Plaquebesiedelung

auf der Zahnoberfläche ein sauerstoffarmes Milieu bildet, beginnt sich die Mundflora pathogen zu verändern [30]. Daher ist es neben der Entfernung der mikrobiellen Beläge als prophylaktische Maßnahme ebenso notwendig, regelmäßig den Status hinsichtlich Quantität und Lokalisation zu erheben.

Zur Visualisierung der Plaque im Rahmen der klinischen Untersuchungen werden verschiedene Farbstoffe eingesetzt.

1.7.6 Diagnose

Zur Diagnose einer Parodontitis werden alle Befunde aus den genannten Untersuchungen bewertet. Als typische Parameter dienen Taschensondierungstiefe (> 3 mm), Blutungsneigung bei Sondierung (BOP – bleeding on probing), der Attachmentverlust und die Furkationsbeteiligung.

1.7.7 Therapie

Die Grundlage einer erfolgreichen PA-Therapie ist das mechanische supra- und subgingivale Debridement [6]. Ein wesentlicher Faktor hierbei ist die mechanische Reduktion der anaeroben und pathogenen Bakterien A.a., P.g., T.f. und T.d, um die physiologische mikrobiologische Bedingung im subgingivalen Kompartiment wiederherzustellen und so die gewebedestruktiven Prozesse zu unterbrechen. Die mechanische Therapie ist vom Patienten durch eine konsequente häusliche Mundhygiene zu unterstützen, die neben der rein mechanischen Reinigung der Zähne zusätzlich durch eine chemische Plaque-Kontrolle ergänzt werden kann. [152] [153] [154] [155] [156]. So soll verhindert werden, dass sich erneut ein pathogener Biofilm bildet. Mit einem Zeitabstand von vier bis zwölf Wochen wird der Patient erneut untersucht und es wird eine Reevaluierung der klinischen Parameter vorgenommen. Sollten sich die Taschentiefen nicht ausreichend verringert haben, ist ein erneutes Debridement erforderlich. Im Rahmen der Auswahl einer geeigneten Therapie muss beachtet werden, dass es Patienten gibt, die kaum auf eine konventionelle parodontale Therapie ansprechen. In diesen Fällen führt das subgingivale Scaling der Wurzeloberfläche nicht zur Reduktion der MMP-8 Konzentration [157]. Hier ist der gezielte Einsatz einer adjuvanten antimikrobiellen Therapie durch die Richtlinien empfohlen. Über die Wahl des richtigen Antibiotikums bzw. über deren allgemeinen Einsatz in der Therapie der Parodontitis ist die Studienlage uneinheitlich [158] [159] [160] [161]. Jedoch scheint eine adjuvante Therapie mit Antibiotika den Erfolg einer parodontalen Therapie bei Einhaltung

spezifischer Indikationen zu verbessern [162] [163] [164] [165]. In Fällen einer aggressiven sowie schweren chronischen Parodontitis ist ebenfalls eine adjuvante antibiotische Therapie indiziert [145]. Eine ausschließlich medikamentöse antimikrobielle Therapie ist unzureichend, da es sich bei Parodontitis um eine Biofilm-induzierte Erkrankung handelt, und die Wirksubstanzen den erforderlichen Wirkort nicht im notwendigen Maß erreichen können [166].

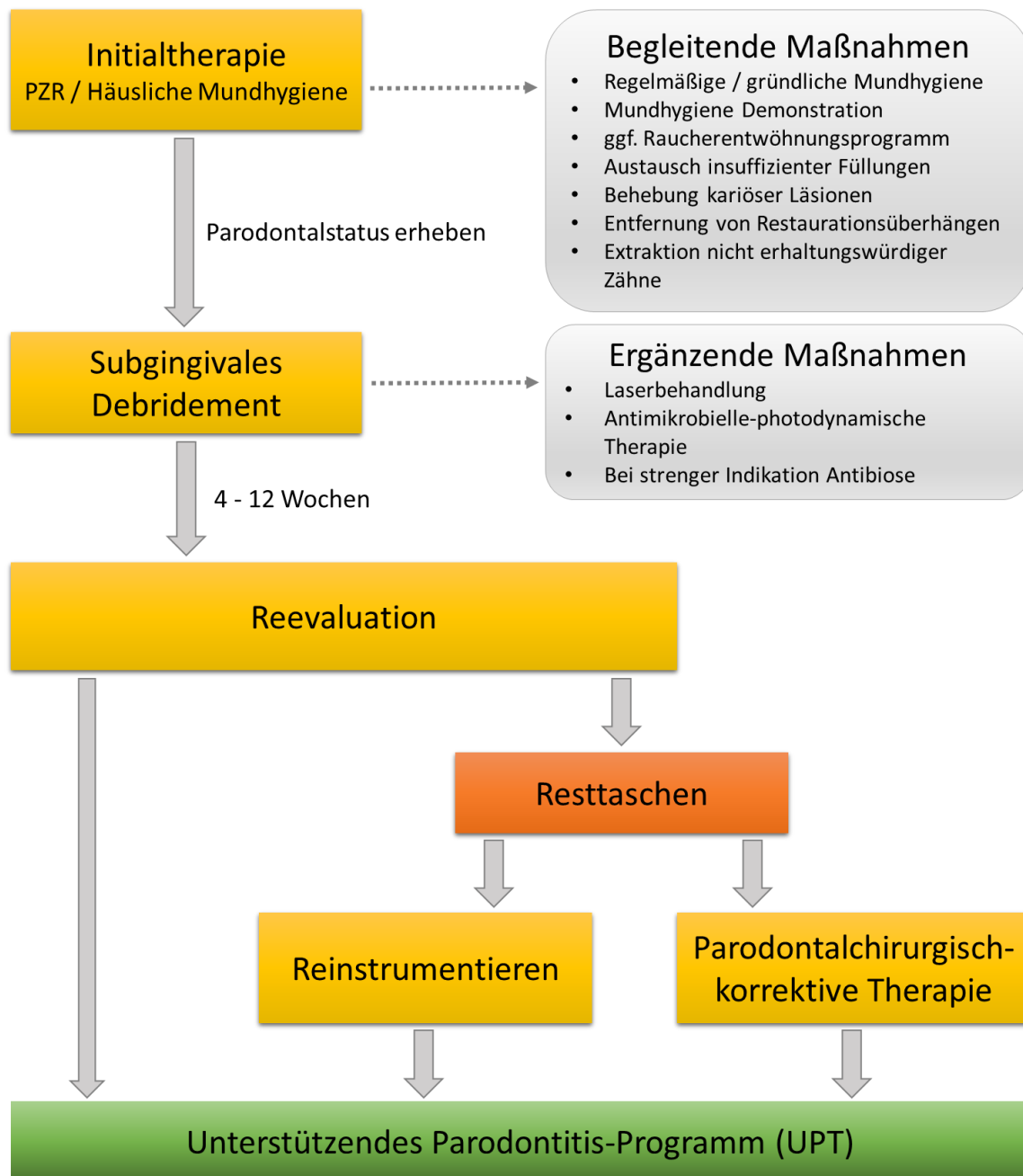


Abb. 6: Schematischer Ablauf einer systematischen Parodontitis-Therapie, vgl. [167]

Für den langfristigen Erfolg einer parodontalen Therapie ist in jedem Fall die dauerhafte Begleitung des Patienten durch eine unterstützende Parodontitistherapie (UPT, auch Recall genannt) erforderlich. Hierbei soll beim Patienten in regelmäßigen Abständen der aktuelle parodontale Status erhoben werden, um Veränderungen frühzeitig zu erkennen und durch geeignete Maßnahmen einer weiter fortschreitenden Parodontitis entgegenzuwirken.

Wesentliche Bestandteile der UPT sind:

- Die Kontrolle der Mundhygiene mittels Plaque- und BOP-Index
- Die Erhebung eines Parodontitis-Status (mindestens 1x jährlich)
- Entfernung von supra- und subgingivalen Belägen und Biofilm an allen Zähnen
- Subgingivale Instrumentierung bei Zähnen mit TST = 4mm und gleichzeitigem BOP bzw. TST \geq 5mm
- Motivation und Instruktion zur Mundhygiene

Die konsequent angewandte UPT kann den Zahnverlust in Folge einer Parodontitis um 2 Zähne über 10 Jahre verringern im Vergleich zu einer unregelmäßigen Teilnahme am UPT. Bei Patienten, die unregelmäßig am UPT teilnehmen oder diese sogar vollständig abbrechen zeigt sich über einen Betrachtungszeitraum von 10 Jahren bei gleicher Ausgangslage im Vergleich zu Patienten mit hoher Compliance eine deutliche Verschlechterung der klinischen Parameter. [168] [169].

2 Zielsetzung

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollte die Bedeutung der systemischen Expression von zwei Biomarkern, dem Surfactant-Protein D (SP-D) und der Matrixmetalloproteinase 8 (MMP-8) zur Verlaufskontrolle der Parodontitis in den ersten sechs Monaten nach der Therapie untersucht werden.

3 Material und Methoden

Die Studie entspricht den ethischen Richtlinien der Helsinki-Deklaration [170] und wurde durch die Ethik-Kommission der medizinischen Fakultät der LMU positiv bewertet (Nr. 025/11).

3.1 Auswahl der Studienpopulation

Patienten der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der LMU wurden nach Aufklärung über die Ziele und Inhalte der Studie und schriftlicher Zustimmung in die Studie aufgenommen. Als Voraussetzung galt die Diagnose einer chronischen Parodontitis (PA-Befund mit einem PSI-Score 3 oder 4). Bei allen Patienten wurde zu Beginn und nach 6 Monaten ein vollständiger parodontaler Befund erhoben. Dieser Befund beinhaltet die Messung der Sondierungstiefen, die gingivale Rezession, das Bluten auf Sondieren, die supragingivale Plaquebesiedlung und die gingivale Blutung an sechs Messstellen je Zahn. [6]. Zusätzlich wurden zahnbezogene Kofaktoren wie Plaqueretentionsstellen und Überbelastungen und allgemeinmedizinische Kofaktoren wie Rauchgewohnheiten, psychosozialer Stress und Übergewicht dokumentiert und eine Bakterien- und Sulkusflüssigkeitsprobe entnommen. Zusätzlich wurde von jedem Probanden zu diesen Zeitpunkten eine venöse Blutprobe gewonnen.

Die Patienten wurden über die Studieninhalte aufgeklärt und haben schriftlich ihr Einverständnis zur Studienteilnahme erklärt. Zusätzlich zum PSI-Score wurde eine OPG Aufnahme angefertigt, um den Knochenabbau zu beurteilen.

3.2 Einteilung der Stadien

In der Folge wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt. Teilnehmer, mit einem Knochenabbau größer 50% an mindestens sieben Zähnen wurden als Patienten mit schwerer Parodontitis eingestuft. Alle Patienten mit weniger ausgeprägten Gewebedefekten wurden der Gruppe mit leichter bzw. moderater Parodontitis zugeordnet.

3.2.1 Untersuchungsgruppe

Die Untersuchungsgruppe der Studie bestanden ausschließlich aus Patienten im Alter zwischen 18 und 65 Jahren, bei denen auf Grund klinischer und/oder radiologischer Symptome die Diagnose einer chronischen Parodontitis marginalis gestellt werden konnte.

Dazu müssen mindestens fünf Zähne des betreffenden Patienten folgende Symptome aufweisen: Eine marginale Taschensondierungstiefe von mindestens 4 mm an wenigstens einem von sechs Sondierungspunkten im mesialen, mittleren oder distalen Bereich der oralen oder vestibulären Wurzeloberfläche und / oder eine pathologische Eröffnung der Wurzelfurkation von mehrwurzeligen Zähnen des Ober- oder Unterkiefers und / oder einen radiologisch nachweisbaren pathogenen horizontalen oder vertikalen Attachmentverlust und / oder sicher nachweisbar aus parodontogener Ursache entfernt oder spontan exartikuliert worden sein.

3.2.2 Ausschlusskriterien

Die Studienteilnehmer durften zu keinem Zeitpunkt Hinweise auf ein angeborenes oder erworbenes Blutungsleiden gezeigt haben. Darüber hinaus führen auch alle Zustände, die mit einer vorübergehenden oder dauerhaften Einschränkung der immunologischen Potenz einhergehen zum Ausschluss an der Studienteilnahme.

Darunter fallen insbesondere alle Patienten mit

- angeborenen oder erworbene Immundefekten
- medikamentös induzierter Immunsuppression (z. B. Cortison, Cyclosporin)
- malignen hämatologischen oder lymphoproliferativen Erkrankungen
- malignen Tumoren
- HIV-Infektion oder
- therapiebedürftigen Erkrankungen autoimmuner Genese (z.B. chronisch entzündliche Darmerkrankungen, rheumatische Erkrankungen)

Zum Ausschluss führen auch

- eine Erkrankung an Diabetes mellitus
- angeborene oder erworbene Herzvitien
- Zustand nach künstlichem Herzklappenersatz
- eingeschränkte Leberfunktion
- cerebrale Krampfleiden sowie schwere sonstige neurologische oder psychische Erkrankungen
- systemische Infektionskrankheiten

- angeborene oder erworbene Defekte der Kollagensynthese
- schwere Durchblutungsstörungen der oberen Extremitäten

3.3 Vorgehensweise zur Untersuchung

3.3.1 Gewinnung der Proben

Die Proben wurden im Rahmen der Untersuchungsintervalle gewonnen. Die klinischen und radiologischen Befunde wurden von zwei kalibrierten Untersuchern erhoben. Die Proben wurden in den wissenschaftlichen Laboren der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie nach den folgenden Markermolekülen untersucht:

- Matrix-Metalloproteinase 8
- Surfactant-Protein-D

Insgesamt wurden je Patient und Untersuchung folgende Mengen an Proben genommen:

Blut:

Zur Blutentnahme wurden 4 Röhrchen à 7,5 ml gefüllt. Davon waren zwei EDTA Röhrchen (rot) („Greiner Bio-one“, Frickenhausen, Deutschland) zur Gewinnung von Plasma, sowie zwei Serum-Röhrchen (weiß) („Greiner Bio-one“) zur Gewinnung von Serum genutzt.

Speichel:

Der Mund sollte 30 Sekunden mit Leitungswasser ausgespült werden, das Wasser danach ausgespuckt. Nach einer Minute wurde der Mund für 30 Sekunden Wasser gespült. Für 30 Sekunden sollte der Mund intensiv gespült werden, ohne zu gurgeln. Die Spüllösung wurde vollständig in den Becher zurück gespuckt, woraus ein 50 ml Röhrchen befüllt wurde.

Sulkusfluid:

Im Anschluss an den klinischen Parodontalbefund wurde mittels eines GCF (gingival crevicular fluid)-Streifens aus der jeweils tiefsten parodontalen Tasche jedes Quadranten eine Probe des Sulkusfluids zur Bestimmung der vorhandenen PA-Bakterien entnommen. Die exakte Entnahmestelle sowie Uhrzeit wurden im PA-Programm unter Befund Plaqueindex / Blutungsindex dokumentiert. Dazu wurde der Zahn vom Speichel befreit, Übertrocknung war zu vermeiden. Der GCF-Streifen wurde mit der Pinzette am blauen Ende gefasst und vom Träger abgezogen. Der GCF-Streifen wurde mit dem weißen Ende ca 1-2

mm in den Sulkus eingeführt und dort für 30 Sekunden belassen. Nach Entnahme des GCF-Streifens wurde dieser in das Kryoröhrchen (Greiner Bio One, Deutschland) gegeben.

3.3.2 Verarbeitung der Proben

Alle Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme in einer Kühlbox bei -20° C zwischengelagert und wie nachfolgend beschrieben verarbeitet. Die Aufbereitung der Proben nach Entnahme zur Vorbereitung des Enzyme Linked Immunosorbent Assay-Testverfahrens (ELISA-TEST) umfasste die folgenden Schritte:

- Die EDTA (Plasma) und Serum Röhrchen (Serum) wurden bei 3000 Umdrehungen/Minute für zehn Minuten zentrifugiert, sodass der Überstand abgenommen werden konnte
- Die EDTA Röhrchen wurden in 3 Cryo-Röhrchen (Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland) aufgeteilt
- Die Serum Röhrchen wurden in 2 Cryo-Röhrchen (Greiner Bio-one) aufgeteilt

Danach wurden die Proben bei einer Temperatur von -80° C eingelagert.

3.3.3 ELISA

Der ELISA-Test ist ein Verfahren, das auf der Antigene-Dedektion basiert [170]. Ebenso können Viren, einzelne Proteine, Proteinmoleküle sowie DNA oder RNA nachgewiesen werden. Es stehen verschiedene Varianten des Tests (direkt, indirekt, Sandwich und Konkurrenz-ELISA) zur Verfügung [171]. Zum Nachweis von MMP-8 und SP-D kam jeweils ein Sandwich-ELISA zum Einsatz [172].

Sandwich-ELISA:

Mit dem Sandwich-ELISA können die Antigene in einer Probe quantifiziert werden. Das ELISA Kit ist bereits mit spezifischen Antikörpern auf einer Mikrotitrationsplatte (solid phase) vorbereitet (Abb. 3-1, Schritt 1). Die zu untersuchende Probe wird gemäß Anleitung verdünnt hinzugegeben und für eine definierte Inkubationszeit dort belassen. Die in der Probe vorhandenen Antigene binden an die Antikörper (Abb. 3-1, Schritt 2). Die überschüssigen oder nicht gebundenen Bestandteile der Probe werden ausgewaschen. Im Anschluss wird ein enzymgekoppelter Antikörper hinzugegeben, der ebenfalls an die bereits gebundenen Antigene bindet. Durch Zugabe eines Substrats wird das Enzym zu einer Farbreaktion angeregt (Abb. 3-1, Schritt 3). Dieser Vorgang wird nach einer definierten Zeit

mittels einer speziellen Stop-Lösung unterbrochen. Die Stärke der ausgelösten Farbreaktionen korreliert dabei mit der Menge der gebundenen Antikörper und damit der in der Probe vorhandenen Antigene.

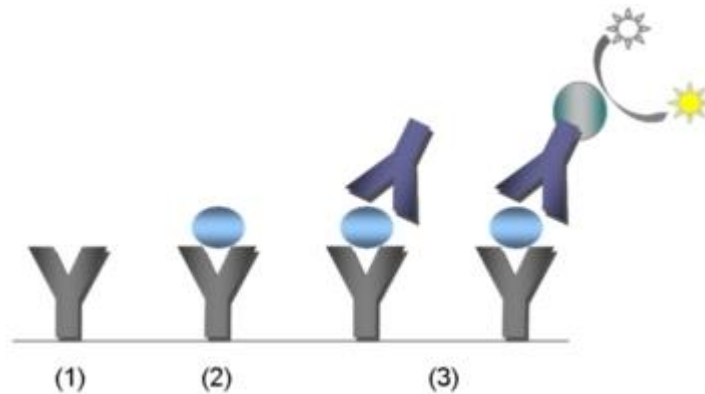


Abb. 7: Schematische Darstellung des Sandwich-ELISA Verfahrens. Abbildung übernommen aus [173]

3.3.3.1 Quantifizierung von MMP-8

Zum Nachweis von MMP-8 wurde das ELISA Kit „dentoELISA aMMP-8“ (dentagnostics GmbH, Jena, Deutschland) verwandt. Die folgenden Arbeitsschritte schlossen sich an die vorbereitenden Schritte aus Kapitel 3.2.2 an.

- Die Proben wurden aus dem Kühlschrank entnommen und von -80° C langsam auf Eis auf Zimmertemperatur gebracht
- Die Proben wurden im Anschluss mit einem Vortex Mischer (IKA Works, Staufen, Deutschland) durchmischt
- Der Kit „dentoELISA aMMP-8“ (dentagnostics GmbH) wurde bei +4° C gelagert und 60 min vor dem Versuch in Zimmertemperatur überführt
- Der „Waschpuffer“ wurde mit 900 ml destilliertem Wasser verdünnt
- Nachfolgend wurde eine 1:500 Verdünnung der Proben hergestellt: 2,4 µl Probe mit 1200 µl Verdünnung
- Bis zu 40 Proben wurden zusammen mit den mitgelieferten Kalibratoren Cal1-5, der Verdünnungsflüssigkeit (Dil) und Kontrolle (Ctrl) auf eine Belegungsplatte des Kits gemäß Anleitung verteilt.

- Proben, Kalibratoren, Verdünnung und Kontrolle wurden jeweils mit 100 µl / Well pipettiert und in einer Doppelbelegung angeordnet

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Cal2 0,25 ng/ml	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
B	Blank	Cal2 0,25 ng/ml	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
C	Cal5 1,6 ng/ml	Cal1 0,125 ng/ml	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
D	Cal5 1,6 ng/ml	Cal1 0,125 ng/ml	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
E	Cal4 1,0 ng/ml	Dil	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
F	Cal4 1,0 ng/ml	Dil	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
G	Cal3 0,5 ng/ml	Ctrl	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
H	Cal3 0,5 ng/ml	Ctrl	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40

Tabelle 1: schematische Darstellung eines Belegungsplans zum MMP-8 Test

- Nach Belegung wurde die Platte mit der vorgesehenen Schutzfolie abgedeckt und zur Inkubation für 60 Minuten bei 37° C im Wärmeschrank gelagert
- Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden alle Wells entleert und 5x mit Waschpuffer (200µl pro Well) ausgewaschen.
- Anschließend wurden aus dem Kit 100 µl Konjugat (CONJ HRP) pro Well dazugegeben
- Die Platte wurde erneut mit Folie abgedeckt und für weitere 30 Minuten bei 37° C im Wärmeschrank inkubiert

- Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden alle Wells entleert und 5x mit Waschpuffer (200 µl pro Well) ausgewaschen.
- Anschließend wurde aus dem Kit 100 µl Substrat (SUBSTR TMB) pro Well dazugegeben
- Die Platte wurde erneut mit Folie abgedeckt und für 15 min bei Raumtemperatur und 500 rpm auf einen Plattenformschüttler Polymax 1040 (Firma Heidolph, Schwabach, Deutschland) gerüttelt
- Nach 15 min wurden 100 µl Stopsolution (STOP) in jedes Well gegeben
- Die Extinktion der Proben wurde mittels Varioskan® (Software: Skanlt Software 2.2) (Thermo Fisher Scientific Inc, USA) bei 450 nm und 620 nm gemessen.
- Bei einer Extinktionswertabweichung von mehr als 10% zwischen den Duplikaten einer Probe wurde diese wiederholt
- Der Mittelwert beider Proben aus beiden Messungen wurde in die statistische Auswertung eingebracht

3.3.3.2 Quantifizierung von Surfactant Protein D

Der Nachweis von SP-D-Antigene wurde mittels des ELISA Kits „Human Surfactant Protein D ELISA“ (BioVendor Research and Diagnostic Products, Bratislava, Slowakei) geführt. Die Abfolge der Arbeitsschritte im Labor orientierte sich eng an den Empfehlungen des Herstellers:

- Die Proben wurden aus dem Kühlschrank entnommen und von -80°C langsam auf Eis auf Zimmertemperatur überführt
- Die Proben wurden im Anschluss mit einem Vortex Mischer (IKA Works, Staufen, Deutschland) gerüttelt
- Der Kit „Human Surfactant Protein D ELISA“ (Bio Vendor Research an Diagnostic Products) wurde bei +4° C gelagert und wurde 60 min vor dem Versuch in Zimmertemperatur überführt

- Der master standard wurde gemäß der Gebrauchsanweisung mit 1,20 ml des mitgelieferten Dilution Buffer angesetzt. Es wurde eine Konzentration von 100 ng/ml hergestellt
- Im Anschluss wurde der Master Standard für 15 min gemischt
- High und Low Control wurden gemäß der Gebrauchsanweisung mit dem mitgelieferten Dilution-Buffer angesetzt und für 15 min gemischt
- 100 ml des Waschpuffes wurde 900 ml destilliertem Wasser verdünnt
- Aus dem Master Standard wurde eine Verdünnungsreihe angesetzt. Zwischen jedem Verdünnungsschritt wurden die Eppendorf Tubes® (Eppendorf Research Pipetten, Hamburg, Deutschland) auf dem Vortexer gemischt

Menge des Standards	Verdünnung	Konzentration
Master Standard	keine	100 ng/ml
300µl vom Master Standard	300µl	50ng/ml
300µl von 50ng/ml	300µl	25 ng/ml
300µl von 25 ng/ml	300µl	12,5 ng/ml
300µl von 12,5 ng/ml	300µl	6,25 ng/ml
300µl von 6,25 ng/ml	300µl	3,13 ng/ml
300µl von 3,13 ng/ml	300µl	1,56 ng/ml

Tabelle 2: Verdünnungsreihe des Master Standard

- Zur Vorbereitung der Proben wurden 25 µl Probe mit 250 µl Dilution Buffer angesetzt und vermischt
- Proben, Standards und Kontrollen wurden jeweils mit 100 µl / Well verwendet und in einer Doppelbelegung angeordnet

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	Standard 12,5	High Ctrl	3	7	11	15	19	23	27	31	35
B	Blank	Standard 12,5	High Ctrl	3	7	11	15	19	23	27	31	35
C	Master Standard	Standard 6,25	Low Ctrl	4	8	12	16	20	24	28	32	36
D	Master Standard	Standard 6,25	Low Ctrl	4	8	12	16	20	24	28	32	36
E	Standard 50	Standard 3,13	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
F	Standard 50	Standard 3,13	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37
G	Standard 25	Standard 1,56	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38
H	Standard 25	Standard 1,56	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38

Tabelle 3: schematische Darstellung eines Belegungsplans zum SP-D Test

- Die Platte wurde für 2 h bei Raumtemperatur (23°-27° C) bei 300 rpm (Umdrehungen per Minute) inkubiert
- Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden alle Wells entleert und 5x mit Waschpuffer (350µl pro Well) ausgewaschen.
- Danach wurde in jedes Well 100 µl von der mitgelieferten „Biotin Labelled Antibody Solution“ gegeben
- Die Platte wurde für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur (23°-27° C) auf einem Plattenformschüttler Polymax 1040 (Firma Heidolph, Schwabach, Deutschland) bei 300 rpm (Umdrehungen per Minute) inkubiert
- Danach wurden die Platten wie oben beschrieben ausgewaschen
- Danach wurde in jedes Well 100 µl des mitgelieferten „Streptavidin-HRP Konjugat“ gegeben

- Die Platte wurde für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur (23°-27° C) auf einem Plattenformschüttler Polymax 1040 (Firma Heidolph) bei 300 rpm (Umdrehungen per Minute) inkubiert
- Danach wurden die Platten wie oben beschrieben ausgewaschen
- Danach wurde in jedes Well 100 µl der Substrat Lösung gegeben. Die Platte wurde mit einer Alufolie abgedeckt und für weitere 15 min bei Raumtemperatur (23°-27° C) inkubiert.
- Im Anschluss wurde je Well 100 µl Stop-Lösung gegeben
- Die Extinktion der Proben wurde mittels Varioskan® (Software Skanlt 2.2) (Thermo Fisher Scientific Inc, USA) bei 450 nm und 620 nm gemessen.
- Es wurde der Mittelwert aus den Duplikaten jeder Probe ermittelt. Bei einer Abweichung > 10% wurde die Messung dieser Probe wiederholt

3.3.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Die Polymerase Chain Reaction (PCR) ist ein Verfahren, mittels dem Desoxyribonukleinsäure (DNS, engl. DNA) in vitro exponentiell vervielfältigt werden kann. Die Genauigkeit der PCR ist abhängig von den verwandten Polymerasen, da dieses Verfahren mit hohen Temperaturen von bis zu 95°C arbeitet und die eingesetzten Polymerasen unterschiedlich thermostabil sind [174]. Für die Untersuchungen der vorliegenden Studie wurden thermoresistente Ultra-Start Tth-Polymerasen genutzt, ein Enzym des *Thermus thermophilus*.

Grundsätzlich teilt sich der Ablauf einer PCR in drei sich iterativ wiederholende Phasen:

1. Denaturierung: Die DNA wird innerhalb kürzester Zeit auf 95° C erhitzt, wodurch die Wasserstoffbindungen zwischen den doppelsträngigen DNA-Ketten aufgebrochen werden.
2. Primer-Anlagerung (Annealing): Die jetzt einsträngige DNA wird auf 58° C heruntergekühlt, so dass sich die Primer-Sequenzen anlagern können.
3. Elongation (Extension): Die Proben werden wieder auf 72° C erhitzt, um die Elongation auszulösen.

Diese Sequenz wird zyklisch so oft wiederholt, bis die gewünschte Menge DNA produziert wurde. Zum Nachweis der zu untersuchenden Bakterien der vorliegenden Studie wurde eine qualitative PCR eingesetzt. Im Gegensatz zur quantitativen Methode bestimmt sie nicht die Konzentration der Bakterien. Die Konzentration der Bakterien wurde mit dem ELISA bestimmt, jedoch nicht in der Statistik miteinbezogen.

3.3.5 Isolation der pathogenen Bakterien

Im Rahmen dieser Studie werden die sieben wichtigsten Markerbakterien untersucht, die mit der Entstehung und Progression einer Parodontitis assoziiert sind:

- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.)
- *Porphyromonas gingivalis* (P.g.)
- *Tannerella forsythia* (T.f.)
- *Treponema denticola* (T.d.)
- *Parvimonas micra* (P.m.)
- *Prevotella intermedia* (P.i.)
- *Fusobacterium nucleatum* (F.n.)

Die Probeentnahme am Patienten erfolgte durch sterile Papierspitzen („Absorbent Paper Points“ ISO 40, VDW GmbH München, Deutschland), in der tiefsten parodontalen Tasche je Quadrant. Bis zur Auswertung wurden die Proben bei -80° C gelagert. Die Auswertung der Proben erfolgte in 3 Schritten:

- DNA Isolierung mittels „MagNA Pura LC DNA Isolation Kit 3 (Bacteria, Funghi)“ (Roche Holding, Mannheim, Deutschland)
- PCR-Verfahren mit „Parident“ (Amplexdiagnostics GmbH, Gießen, Deutschland)
- Auswertung der Proben durch ELISA

DNA Isolation

Der erste Schritt ist die Isolierung / Extraktion von Nukleinsäuren mittels „MagNA Pure LC DNA Isolation Kit 3 (Bacteria, Funghi)“ (Roche Holding). In einem Durchgang konnten bis zu 32 Proben gleichzeitig extrahiert werden.

Hierfür wurden die Proben wie folgt vorbereitet:

- Je Probe wurde von 169 µl *bacteria lysis buffer* und 26 µl Proteinase K hinzugefügt
- Mischen der Proben

- Die Proben wurden auf 65° C für 10 Minuten im Wasserbad (Haake 3 DC10 und SWB25, Thermo Elektron, Karlsruhe) erhitzt
- Danach wurden die Proben auf 95° C für 10 Minuten im Wasserbad (Haake) erhitzt
- Die Proben wurden 1 Minute bei 10.000 g zentrifugiert mittels „Allegra 25R Centrifuge“ (Beckman Coulter, Indianapolis, Indiana, USA)
- Nach dem Abkühlen
- Jeweils 100 µl der Proben wurden vorgelegt
- DNA-Isolierung durch MagNaPure (Roche)

Parident PAF-PMT PCR

Für die PCR gibt es zwei verschiedene Reagenzien: Die PAF-PCR-Reagenzien detektieren die Bakterien P.g., A.a., F.n. während die PMT-PCR-Reagenzien die Bakterien T.f., P.i., P.m., T.d. und interne Kontrolle (IK) analysieren.

Vorbereitung des Master-Mix:

- 35 µl Nukleotid-Mix
- 35 µl PAF-Primer-Mix, bzw. PMT-Primer-Mix
- 175 µl 10xPCR-Puffer
- 70 µl UltraStart Tth-DNA-Polymerase
- 1260 µl steriles H₂O
- Zusammen pipettieren von 45µl Mastermix (PAF, bzw. PMT) und 5 µl der Proben
- Das Probenmaterial wurde in eine Bio-Rad Hard Shell pipettiert.
- Zentrifugieren für 2 Minuten (Allegra 25R Centrifuge, Beckman Coulter)
- Durchführung der PCR im Thermal Cycler (DNA Engine Dyad, Firma Bio Rad, Reno, Nevada, USA). Die Programmierung erfolgte gemäß Tabelle 3-7: Programmierung des Thermal Cycler (Bio Rad).

	PAF					PMT						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1	9	17	25	IK	1	9	17	25	IK		
B	2	10	18	26		2	10	18	26			
C	3	11	19	27		3	11	19	27			
D	4	12	20	28		4	12	20	28			
E	5	13	21	29		5	13	21	29			
F	6	14	22	30		6	14	22	30			
G	7	15	23	31		7	15	23	31			
H	8	16	24	32		8	16	24	32			

Tabelle 4: Belegung des Probenmaterials

Zyklus	Temperatur °C	Zeit	Reaktion
1x	94° C	5 Minuten	Anfangsdenaturierung der DNA
40x	94° C	25 Sekunden	Denaturierung der DNA
	58° C	25 Sekunden	Bindung der Primer
	72° C	45 Sekunden	3'-OH Elongation der Primer
1x	72° C	3 Minuten	Finale Elongation

Tabelle 5: Programmierung des BioRaid

ELISA

Die gewonnenen Proben aus der PCR wurden mit einem Parident-ELISA (Amplexdiagnostics GmbH) ausgewertet. Hierbei wurde die Sandwich-Technik angewandt. Vor Gebrauch des Tests wurde die stringente Waschlösung auf 50° C, sowie der Waschpuffer, TMB-Substratlösung, Stop-Lösung und die benötigten Mikrotiterplatten auf Raumtemperatur gebracht.

- Herstellung des stringenten Waschpuffer (1:20 H₂O_{deion})
- Herstellung der Konjugatverdünnung (1:100 Waschpuffer)

Ablauf des Tests

- Denaturierung der bakteriellen DNA bei 95° C für 10 Minuten
- Pipettieren von 300 µl Hybridisierungslösung in Tubes
- Parident-Platten mit Hybridisierungsmodulen bestücken
 - Position A 1-11: A.A.: rot
 - Position B 1-11: P.G.: blau
 - Position C 1-11: F.N.: gelb
 - Position D 1-11: T.F.: orange
 - Position E 1-11: P.M.: schwarz
 - Position F 1-11: T.D.: violett
 - Position G 1-11: P.I.: grün
 - Position H 1-11: interne Kontrolle: weiß
 - Position A12: Blank
- Inkubation bei 50° C für 30 Minuten
- 3x stringentes Waschen mit 200 µl pro Well
- 1x Waschen mit 200 µl pro Well
- Hinzufügen von 100 µl Konjugat pro Well
- Inkubation bei 37° C für 30 Minuten
- 3x Waschen mit 200 µl pro Well
- 100 µl Substrat pro Well
- Inkubation für 30 Minuten bei 37° C
- Abstoppen mit 100 µl Stop-Lösung pro Well
- Die Extinktion der Proben wurde mittels Varioskan® (Software: Skanlt Software 2.2) (Thermo Fisher Scientific Inc, USA) bei 450 nm und 620 nm gemessen

Der Test war unter folgenden Bedingungen auswertbar.

- Extinktion Reagenzienkontrolle $\leq 0,100$
- Extinktion Negativkontrolle $\leq 0,150$
- Extinktion interne Kontrolle $\geq 0,500$

3.4 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Statistiksoftware SPSS 22.0. (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Im ersten Schritt wurden die Daten mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests auf ihre Normalverteilung geprüft, wobei zusätzlich eine Signifikanzkorrektur nach Lilliefors durchgeführt wurde. Es konnte gezeigt werden, dass nicht für alle Variablen eine Normalverteilung vorliegt, so dass die Unterschiede zwischen den Gruppen mit nicht parametrischen Tests, dem Kruskal-Wallis-Test und dem Mann-Whitney-Test, analysiert wurden. Die Verteilung von kategorialen Daten wurden mit Kreuztabellen und dem Chi-Quadrat-Test geprüft. Für alle Tests wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha=5\%$ bzw. $p=0,05$ festgelegt. Alle Werte werden aus Gründen der besseren Lesbarkeit auf zwei Nachkommastellen gerundet. Die exakten Werten finden sich in den Detailauswertungen.

4 Ergebnisse

4.1 Tatsächliche Studienpopulation

Aus den beschriebenen Vorgaben ergaben sich für die vorliegende Arbeit folgende Teilnehmerzahlen über die analysierten Untersuchungsintervalle. Die Studienpopulation zur initialen Untersuchung und ersten Nachuntersuchung wurde aufgedgliedert in die untersuchten Teilgruppen und Messungen erhoben.

Messung	Gesamt	Frauen	Männer	Raucher	Nichtraucher
SP-D	151	70	81	54	92
MMP8	148	69	79	54	98
ST all	150	71	79	56	93
ST multi	149	71	78	56	92
ST single	150	71	79	54	93
BOP all	150	71	79	56	93
BOP multi	146	70	76	55	90
BOP single	149	70	79	56	92
Plaque all	150	71	79	56	93
Plaque multi	144	66	78	55	88
Plaque single	150	71	79	56	93

Tabelle 6: Studienpopulation, initiale Untersuchung

Messung	Gesamt	Frauen	Männer	Raucher	Nichtraucher
SP-D	132	62	70	44	83
MMP8	132	60	72	45	83
ST all	146	69	77	55	90
ST multi	145	69	76	55	89
ST single	146	69	77	55	90
BOP all	146	69	77	55	90
BOP multi	137	65	72	51	85
BOP single	144	69	75	55	88
Plaque all	142	68	74	54	87
Plaque multi	138	66	72	53	84
Plaque single	142	68	74	54	87

Tabelle 7: Studienpopulation, 1. Nachuntersuchung

4.2 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

4.2.1 Ergebnisse Sondierungstiefen

In der Gesamtgruppe der Patienten hat sich ein signifikanter Unterschied bei Taschensondierungstiefen (TST) von der initialen Untersuchung (n=150) zur ersten Nachuntersuchung (n=146) ($p < 0,001$) gezeigt. Der Mittelwert der Sondierungstiefen sank von 2,98 mm ($\pm 0,05$ mm) bei den initialen Untersuchungen auf 2,57 mm ($\pm 0,05$ mm) zur ersten Nachuntersuchung.

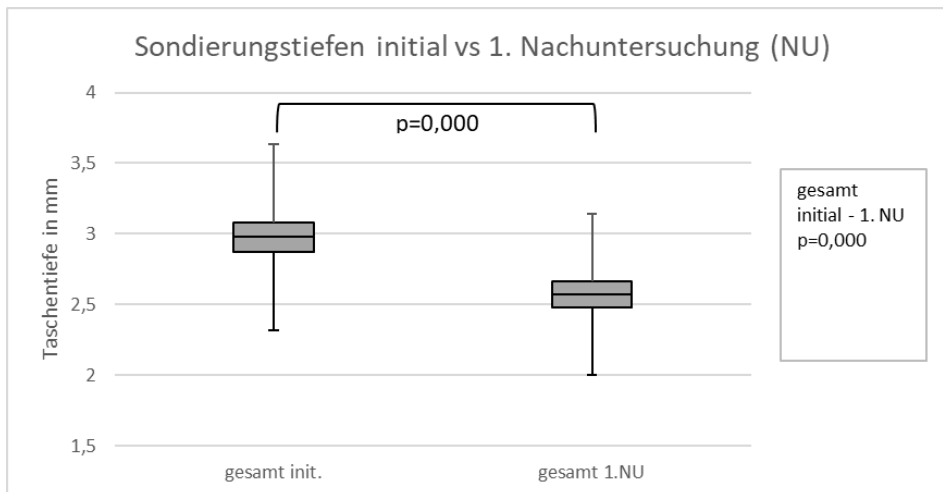


Abb. 8: Sondierungstiefen gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung ($p=0,000$)

4.2.1.1 Vergleich nach Geschlecht

Vergleicht man die Werte der Männer zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,38 mm ($\pm 0,10$ mm) was durch den Mann-Whitney-Test mit $p=0,000$ als signifikant bewertet wird. Vergleicht man die Werte der Frauen zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,44 mm ($\pm 0,10$ mm). Der Mann-Whitney-Test bewertet die Differenz mit $p=0,000$ ebenfalls als signifikant. Für beide Geschlechter lässt sich sowohl nach den Werten, als auch nach der statistischen Auswertung festhalten, dass das untersuchte Behandlungsintervall eine Verbesserung des klinischen Befunds hinsichtlich der Sondierungstiefe aufweist.

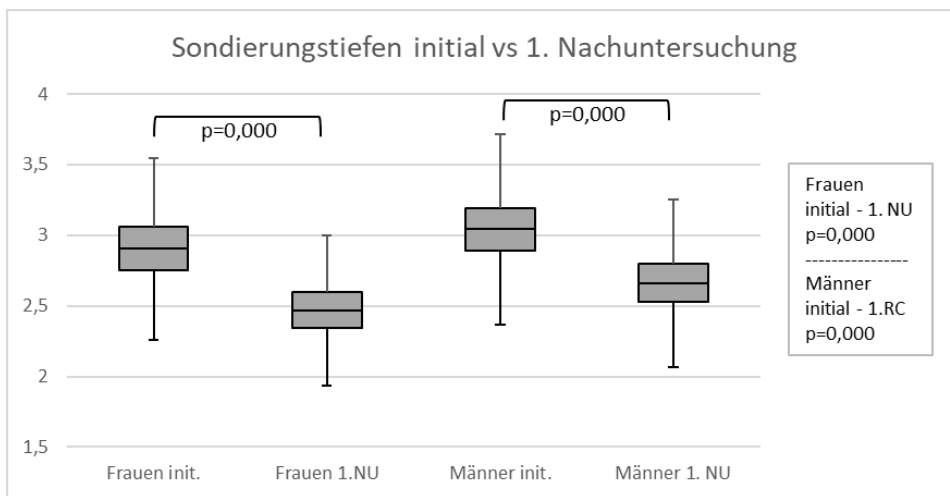


Abb. 9: Vergleich Sondierungstiefen initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen ($p=0,000$) vs. Männer ($p=0,000$)

4.2.1.2 Vergleich nach Raucherstatus

Im Vergleich der Gruppen der Raucher und Nichtraucher zeigten sich signifikante Unterschiede. Vergleicht man die Werte der Raucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,43 mm ($\pm 0,12$ mm) was vom Mann-Whitney-Test mit $p=0,001$ als signifikant bewertet wird. Vergleicht man die Werte der Nichtraucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt eine mittlere Differenz von 0,40 mm ($\pm 0,08$ mm). Diese Differenz wertet der Mann-Whitney-Test mit $p \leq 0,0001$ ebenfalls als signifikant.

Während der initialen Untersuchung unterscheiden sich die Mittelwerte der Raucher (3,28 mm $\pm 0,09$ mm) von denen der Nichtraucher (2,80 mm $\pm 0,06$ mm) in der deskriptiven Statistik deutlich voneinander und weisen mit $p=0,000$ einen signifikanten Unterschied auf. Für die erste Nachuntersuchung bestätigt sich das Bild. Hier weisen die Mittelwerte der Raucher (2,85 mm $\pm 0,08$ mm) einen deutlicheren Unterschied zu dem der Nichtraucher (2,40 mm $\pm 0,05$ mm) auf. Die Auswertung des Mann-Whitney-Test weist auch diesen Unterschied mit $p \leq 0,0001$ als signifikant aus.

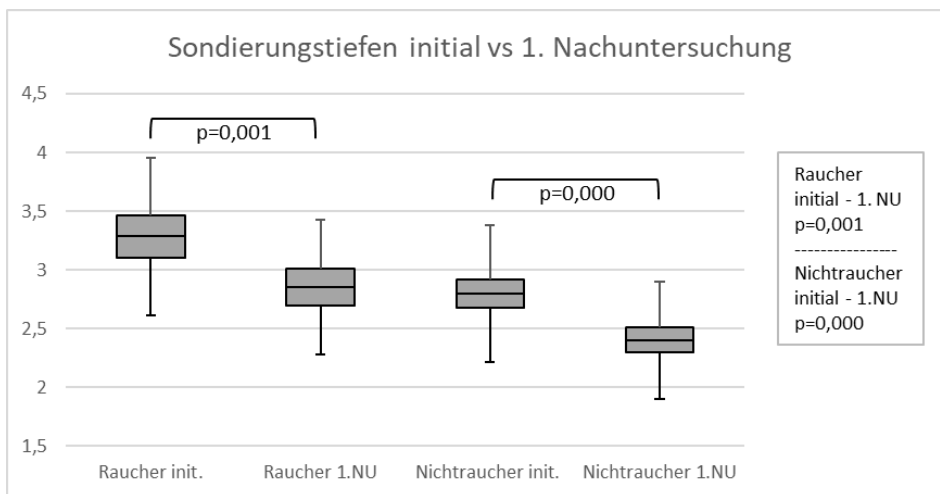


Abb. 10: Vergleich Sondierungstiefen initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ($p=0,001$) vs. Nichtraucher ($p=0,000$)

4.2.2 Ergebnisse Blutung nach Sondierung, BOP

Über die Gesamtgruppe der Patienten hat sich ein signifikanter Unterschied bei BOP von der initialen Untersuchung ($n=150$) zur ersten Nachuntersuchung ($n=146$) gezeigt ($p<0,001$). Der Mittelwert der Blutungsneigung bei Sondierung sank von 0,35 während der initialen Untersuchung ($\pm 0,02$) auf 0,26 in der ersten Nachuntersuchung ($\pm 0,01$).

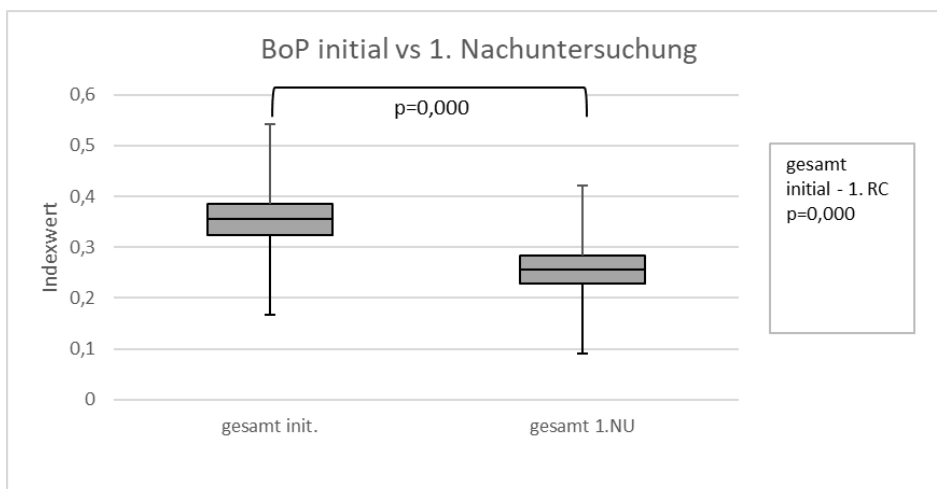


Abb. 11: Blutungsneigung bei Sondierung gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung ($p=0,000$)

4.2.2.1 Vergleich nach Geschlecht

Vergleicht man die Werte der Männer zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,08 ($\pm 0,03$), was durch den Mann-Whitney-Test mit $p=0,006$ als signifikant gewertet wird. Vergleicht man die Werte der Frauen zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,12 ($\pm 0,03$). Der Mann-Whitney-Test bewertet dieses Ergebnis mit $p=0,000$ als signifikant.

Während sich innerhalb der initialen Untersuchung bei BOP die Mittelwerte der Männer ($0,35 \pm 0,02$) von denen der Frauen ($0,36 \pm 0,02$) in der deskriptiven Statistik nur marginal unterscheiden und als nicht signifikant gelten ($p=0,83$), zeigt sich für die ersten Nachuntersuchung ein leicht verändertes Bild. Hier weisen die Mittelwerte der Männer ($0,27 \pm 0,02$) einen leicht vergrößerten Unterschied zu dem der Frauen ($0,24 \pm 0,02$). Dieser Unterschied wird durch den Mann-Whitney-Test mit $p=0,21$ jedoch nicht als signifikant gewertet.

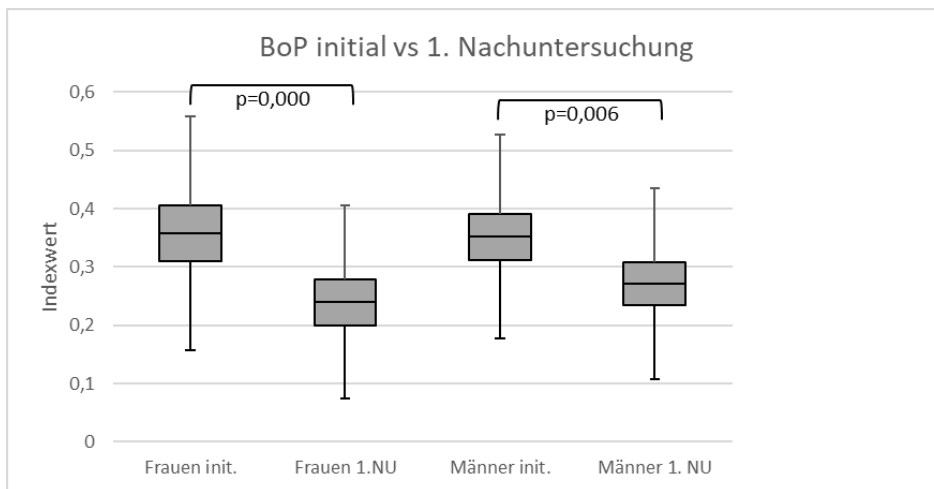


Abb. 12: Blutungsneigung bei Sondierung; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen ($p=0,000$) vs. Männer ($p=0,006$)

4.2.2.2 Vergleich nach Raucherstatus

Nachfolgend wurden die Einzelgruppen der Raucher (Initial $n= 56$, erste Nachuntersuchung $n=55$) und Nichtraucher (Initial $n= 93$, erste Nachuntersuchung $n=90$) gegeneinander auf signifikante Unterschiede geprüft. Vergleicht man die Werte der Raucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von $0,08 (\pm 0,03)$. Der Mann-Whitney-Test wertet das Ergebnis mit $p=0,037$ als signifikant. Vergleicht man die Werte der Nichtraucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt eine mittlere Differenz von $0,11 (\pm 0,26)$. Auch hier bestätigt der Mann-Whitney-Test die Differenz mit $p \leq 0,0001$ als signifikant.

Während der initialen Untersuchung unterscheiden sich die Mittelwerte der Raucher ($0,33 \pm 0,03$) von denen der Nichtraucher ($0,37 \pm 0,02$) in der deskriptiven Statistik nur gering voneinander und dennoch ist dieser Unterschied signifikant $p=0,067$ (Mann-Whitney). Für die erste Nachuntersuchung verschiebt sich das Bild. Hier weisen die Mittelwerte der

Raucher ($0,25 \pm 0,02$) einen noch geringeren Unterschied zu dem der Nichtraucher ($0,27 \pm 0,02$) auf. Die Auswertung durch den Mann-Whitney-Test kann diesen Unterschied mit $p=0,491$ nicht mehr als signifikant bestätigen.

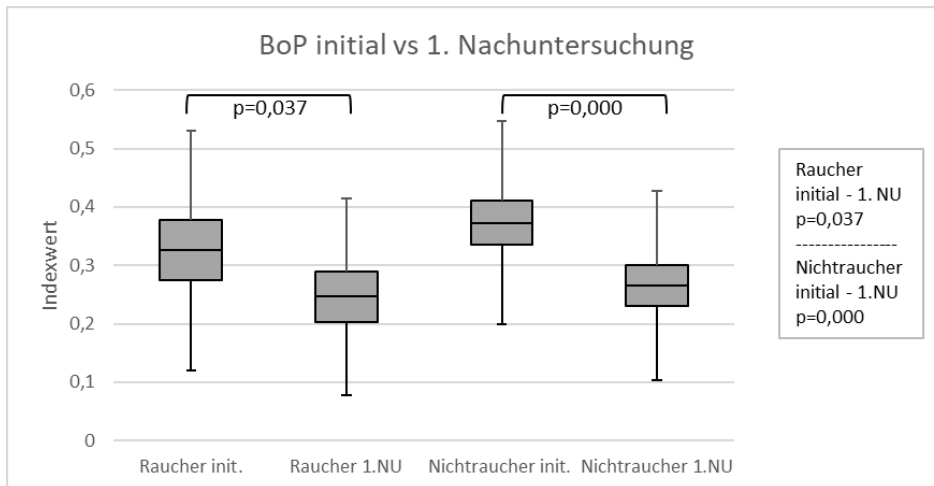


Abb. 13: Blutungsneigung bei Sondierung initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ($p=0,037$) vs. Nichtraucher ($p=0,000$)

4.2.3 Ergebnisse Plaque-Index

Über die Gesamtgruppe der Patienten hat sich ein signifikanter Unterschied bei Plaque-Index von der initialen Untersuchung ($n=150$) zur ersten Nachuntersuchung ($n=142$) gezeigt. Der Mittelwert sank von $0,51 (\pm 0,02)$ während der initialen Untersuchung auf $0,45$ in der ersten Nachuntersuchung ($\pm 0,02$). Die Reduktion der Werte kann mit $p=0,012$ im Mann-Whitney-Test als signifikant gewertet werden.

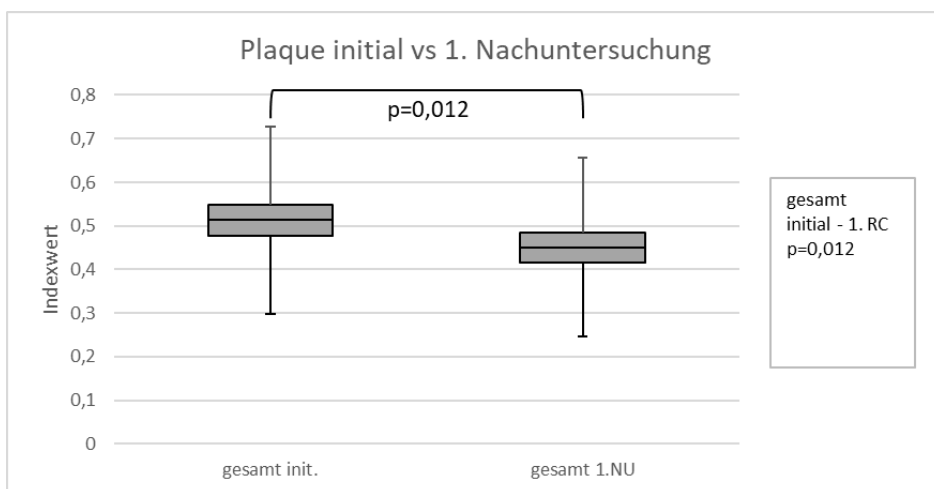


Abb. 14: Plaque, gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung ($p=0,012$)

4.2.3.1 Vergleich nach Geschlecht

Vergleicht man die Werte der Männer zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich mittlere Differenz von 0,07 ($\pm 0,03$). Die Auswertung durch den Mann-Whitney-Test bewertet diese Differenz mit $p=0,022$ als signifikant. Vergleicht man die Werte der Frauen zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,05 ($\pm 0,03$). Dieser Unterschied wird vom Mann-Whitney-Test mit $p=0,168$ als nicht mehr signifikant bewertet.

Während sich innerhalb der initialen Untersuchung bei Plaque-Index die Mittelwerte der Männer ($0,57 \pm 0,02$) von denen der Frauen ($0,45 \pm 0,02$) in der deskriptiven Statistik signifikant unterscheiden ($p=0,001$ im Mann-Whitney-Test) aufweisen, bestätigt sich für die erste Nachuntersuchung das Bild im Wesentlichen. Hier weisen die Mittelwerte der Männer ($0,50 \pm 0,02$) einen leicht vergrößerten Unterschied zu dem der Frauen ($0,40 \pm 0,02$) auf, und bleibt mit $p=0,009$ (Mann-Whitney) signifikant.

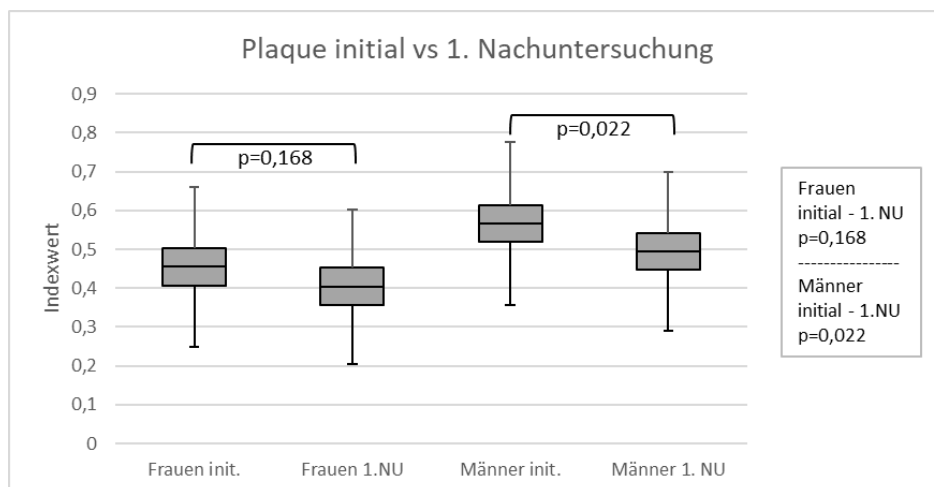


Abb. 15: Plaque; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen ($p=0,168$) vs. Männer ($p=0,022$)

4.2.3.2 Vergleich nach Raucherstatus

Nachfolgend wurden die Einzelgruppen der Raucher (Initial $n= 56$, erste Nachuntersuchung $n=54$) und Nichtraucher (Initial $n= 93$, erste Nachuntersuchung $n=87$) gegeneinander auf signifikante Unterschiede geprüft.

Vergleicht man die Werte der Raucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,04 ($\pm 0,04$). Der Mann-Whitney-Test sieht das Ergebnis mit $p=0,305$ nicht als signifikant. Vergleicht man die Werte

der Nichtraucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 0,07 ($\pm 0,03$). Der Mann-Whitney-Test ($p=0,017$) bestätigt diese Differenz der Nichtraucher als signifikant.

Während der initialen Untersuchung unterscheiden sich die Mittelwerte der Raucher ($0,52 \pm 0,03$) von denen der Nichtraucher ($0,51 \pm 0,02$) in der deskriptiven Statistik nur gering voneinander. Der Unterschied wird durch den Mann-Whitney-Test mit $p=0,608$ nicht als signifikant gewertet. Für die erste Nachuntersuchung verändert sich das Bild. Hier weisen die Mittelwerte der Raucher ($0,48 \pm 0,03$) einen deutlichen Unterschied zu dem der Nichtraucher ($0,43 \pm 0,02$) auf. Die Auswertung mittels Mann-Whitney-Test weist diesen Unterschied mit $p=0,169$ als signifikant aus. Somit wird deutlich, dass die Nichtraucher eine niedrigere Plaque-Neubildung als die Raucher verzeichnen können.

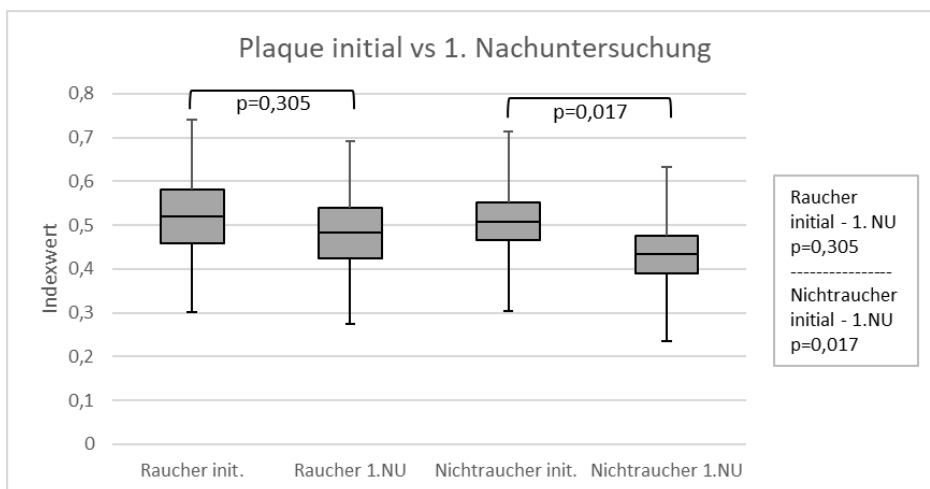


Abb. 16: Plaque; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ($p=0,305$) vs. Nichtraucher ($p=0,017$)

4.2.4 Parodontalpathogene Bakterien

Untersucht wurden die oben genannten Bakterien während der Initialtherapie und der ersten Nachuntersuchung. Dabei wurde sowohl Anzahl als auch Anteil der Patienten ermittelt, die positiv bzw. negativ auf die einzelnen Bakterien getestet wurden. Nachfolgend werden die positiven Befunde prozentual je Keim dargestellt.

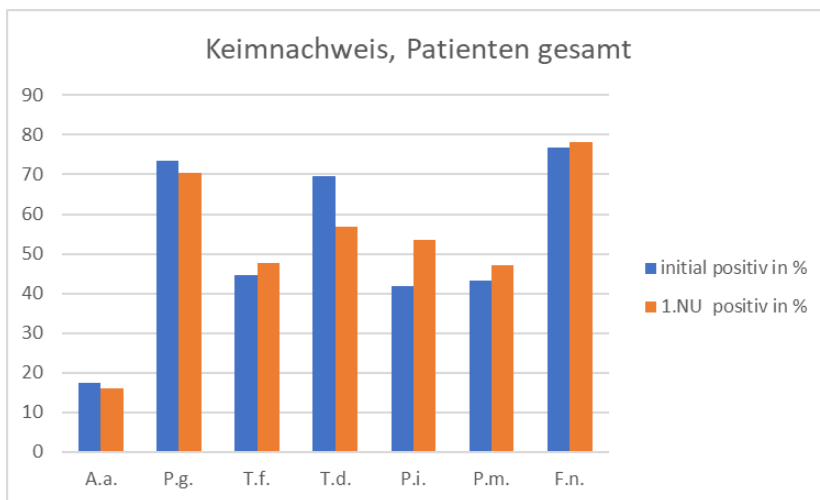


Abb. 17: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; alle Patienten

Für die Gesamtheit aller Patienten zeigt sich ein Zusammenhang zwischen den nachgewiesenen Bakterien T.f., T.d., P.i. und P.m. und dem Vorliegen einer Parodontitis. Für die Bakterien T.f., P.i. und P.m. zeigt sich zur ersten Nachuntersuchung sogar ein höherer Anteil an Patienten mit Keimbelastung. Für die Bakterien A.a., P.g. und F.n. lässt sich über die Gesamtheit der Patienten kein statistischer Zusammenhang zwischen mikrobiellem Befund und Parodontalerkrankung ableiten. Neben der Gesamtheit aller Patienten wurden auch die Einzelgruppen ausgewertet, um gruppenspezifische Abweichungen zur Gesamtheit zu erkennen.

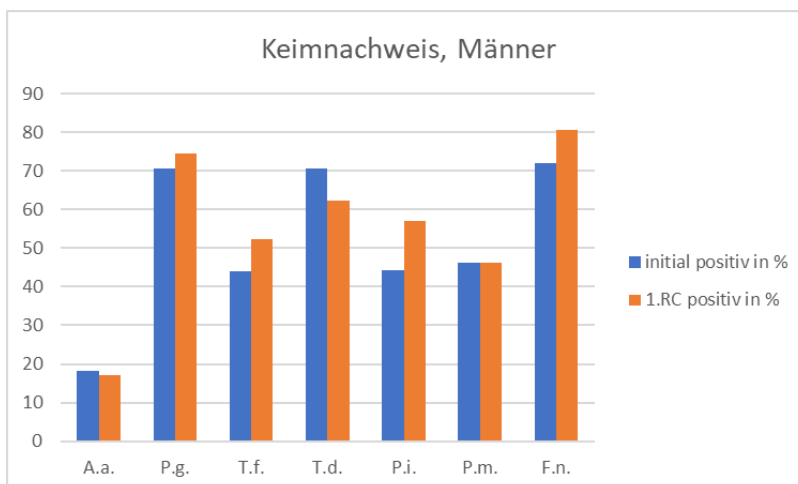


Abb. 18: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Männer

Männer zeigen im Vergleich zur Gesamtheit aller Patienten einen erhöhten Anteil positiver Befunde. Ein Zusammenhang zwischen mikrobiellem Befund und PA-Erkrankung lässt sich

für die Bakterien T.f., P.i. und P.m. nachweisen. Für diese Bakterien zeigt sich wie bei der Gesamtheit der Patienten ebenso ein stetig ansteigender Anteil der positiven Befunde.

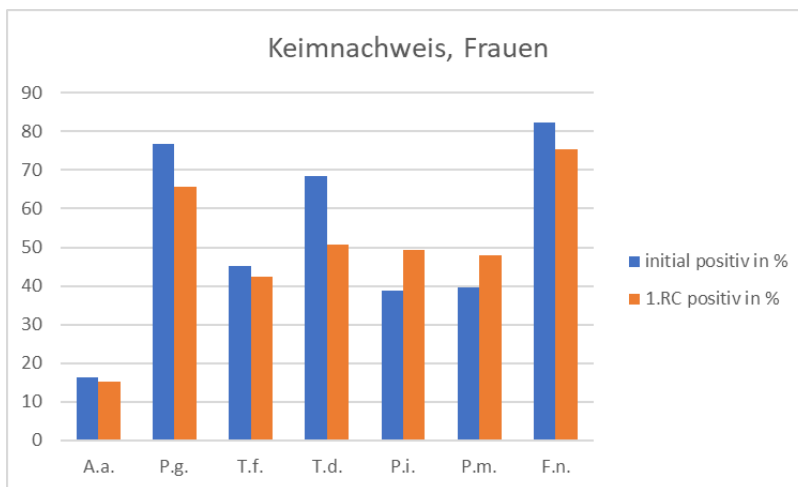


Abb. 19: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen

Frauen zeigen im Vergleich zur Gesamtheit aller Patienten einen niedrigeren Anteil positiver Befunde. Einzig bei P.m. fällt die Zunahme positiver Befunde größer aus als in der Gesamtheit aller Patienten. Ein Zusammenhang zwischen mikrobiologischem Befund und PA-Erkrankung lässt sich für die Bakterien T.f., T.d., P.i. und P.m. nachweisen. Im Gegensatz zu Männern zeigt sich bei Frauen im ersten Recall ein sinkender Anteil nachgewiesener Infektionen mit P.g., T.f. und T.n.

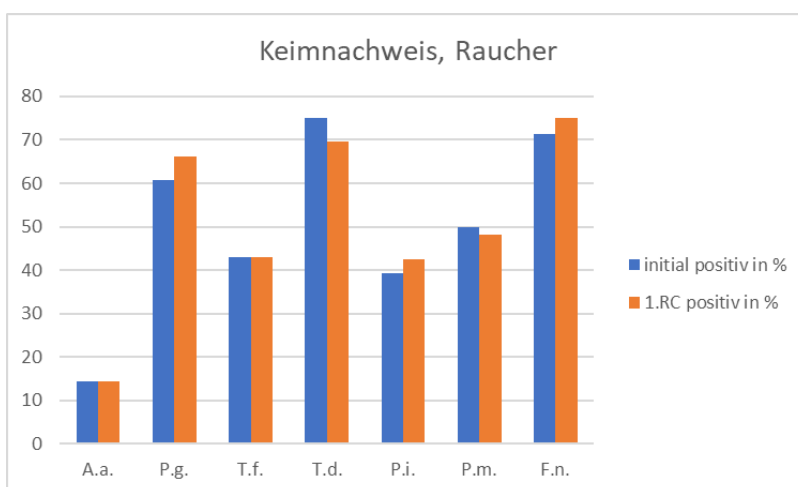


Abb. 20: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher

Für Raucher zeigt sich für die Bakterien A.a., P.g., T.f., F.n. und P.i. ein geringerer Anteil an positiven Befunden gegenüber der Gesamtheit. Jedoch kann ein Zusammenhang

zwischen Keim-Befund und PA-Diagnose nur für P.i. bestätigt werden. Hier zeigt sich ebenfalls ein steigender Anteil der positiven Befunde. Für alle anderen Bakterien kann kein Zusammenhang nachgewiesen werden.

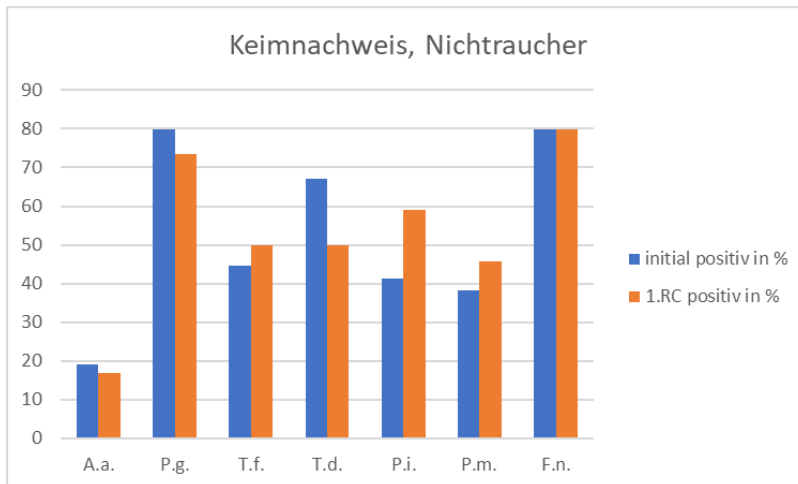


Abb. 21: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Nichtraucher

Für Nichtraucher zeigt sich für die Bakterien A.a., P.g., T.f., F.n. ein erhöhter Anteil an positiven Befunden gegenüber der Gesamtheit. Ein Zusammenhang zwischen mikrobiellem Befund und PA-Diagnose kann für die Bakterien T.f., T.d. und P.i. bestätigt werden. Für T.f. und P.i. zeigt sich auch ein stetiger Anstieg des Anteils der positiven Befunde. Für alle anderen Bakterien kann kein Zusammenhang nachgewiesen werden. Aus der mikrobiologischen Untersuchung dieser Studie zeigen sich die Bakterien T.f., T.d., P.i. und P.m. als die am ehesten verlässlichen Marker eine PA-Erkrankung. Die Ergebnisse legen jedoch nahe, dass der Nachweis von T.d. bei Männern, P.m. bei Frauen und Nichtrauchern kein verlässliches Ergebnis erbringen. Für Raucher scheint einzig der Nachweis von P.i. eine verlässliche Indikation einer vorliegenden PA-Erkrankung zu sein.

4.2 Quantifizierung der Markermoleküle

4.2.1 Ergebnisse SP-D

Über die Gesamtgruppe der Patienten hat sich kein signifikanter Unterschied der systemischen Konzentration von SP-D zwischen der initialen Untersuchung (n=151) zur ersten Nachuntersuchung (n=132) gezeigt (p=0,999). Die Werte des SP-D wurden im Mittel

bei der initialen Untersuchung mit 146,24 ng/ml gemessen und lagen zur ersten Nachuntersuchung bei 146,69 ng/ml.

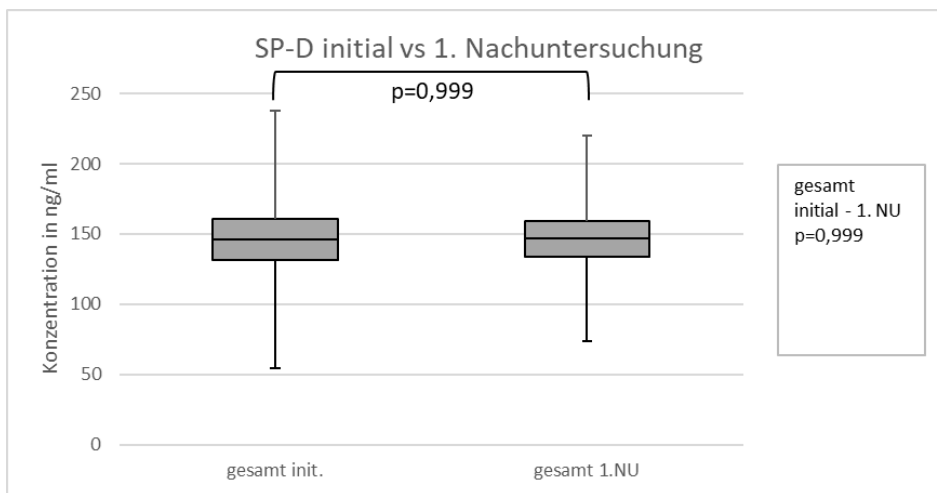


Abb. 22: SP-D, gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung ($p=0,999$)

4.2.1.1 Vergleich nach Geschlecht

Vergleicht man die Werte der Männer zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 3,35 ng/ml ($\pm 13,80$ ng/ml), was durch den Mann-Whitney-Test mit $p=0,550$ als nicht signifikant gewertet wird. Vergleicht man die Werte der Frauen zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von -4,68 ng/ml ($\pm 13,90$ ng/ml) was mit $p=0,563$ durch den Mann-Whitney-Test als nicht signifikant bewertet wird. Innerhalb der initialen Untersuchung unterscheiden sich die Mittelwerte der Männer (144,42 ng/ml $\pm 11,02$ ng/ml) von denen der Frauen (148,35 ng/ml $\pm 9,88$ ng/ml) nur geringfügig und weisen mit $p=0,794$ keinen signifikanten Unterschied auf. Zur ersten Nachuntersuchung verändert sich das Bild nur unwesentlich. Hier weisen die Mittelwerte der Männer (141,07 ng/ml $\pm 8,30$ ng/ml) einen deutlichen Unterschied zu dem der Frauen (153,03 ng/ml $\pm 9,78$ ng/ml) auf.

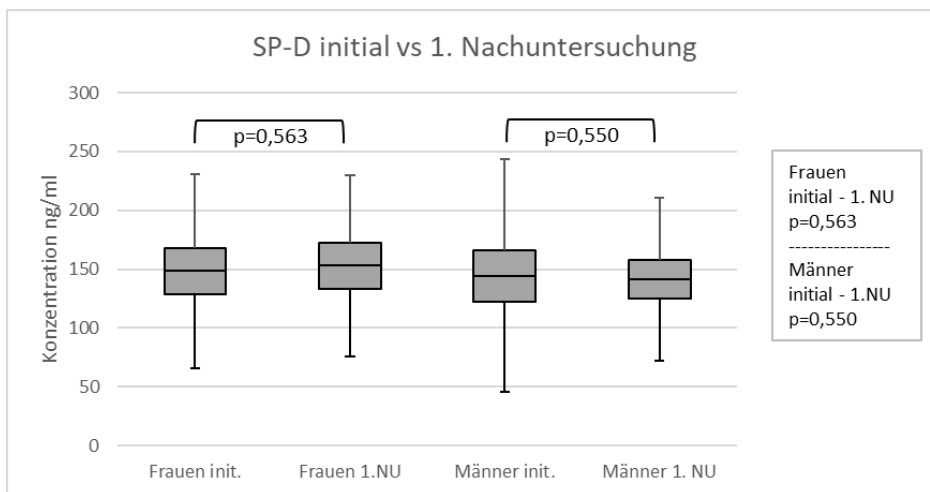


Abb. 23: SP-D; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen ($p=0,563$) vs. Männer ($p=0,550$)

4.2.1.2 Vergleich nach Raucherstatus

Über die Gesamtgruppe der Patienten hat sich ein signifikanter Unterschied gezeigt. Vergleicht man die Werte der Raucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 5,25 ng/ml ($\pm 16,70$ ng/ml). Der Mann-Whitney-Test bewertet mit $p=0,384$ diesen Unterschied als nicht signifikant. Vergleicht man die Werte der Nichtraucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 1,57 ng/ml ($\pm 11,62$ ng/ml) und damit kein signifikanter Unterschied bei $p=0,530$ im Mann-Whitney-Test. Bereits während der initialen Untersuchung unterscheidet sich der Mittelwert der Raucher (156,43 ng/ml $\pm 12,61$ ng/ml) von dem der Nichtraucher (137,79 ng/ml $\pm 9,15$ ng/ml) in der deskriptiven Statistik nicht deutlich genug voneinander und weist eine Signifikanz von 0,227 auf. Für die ersten Nachuntersuchung verändert sich das Bild. Hier weist der Mittelwert der Raucher (161,68 ng/ml $\pm 10,94$ ng/ml) einen deutlicheren Unterschied zu dem der Nichtraucher (136,22 ng/ml $\pm 7,15$ ng/ml) auf.

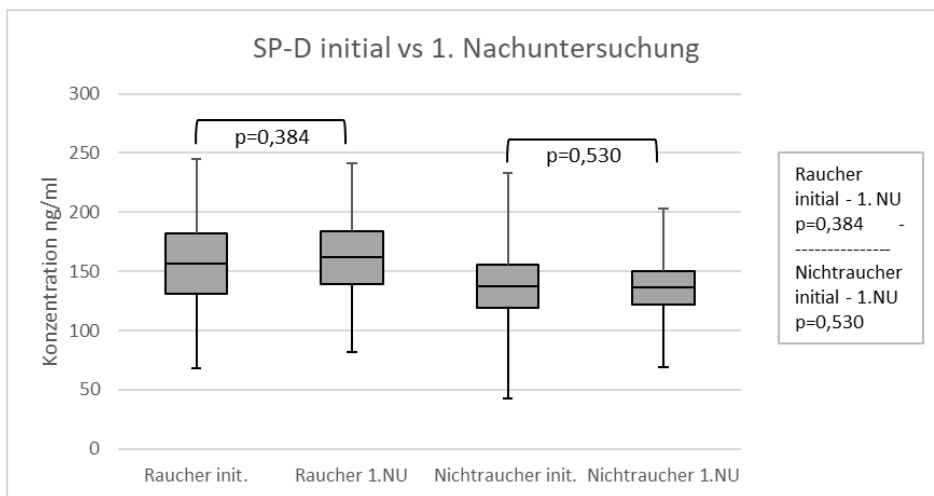


Abb. 24: SP-D; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ($p=0,384$) vs. Nichtraucher ($p=0,530$)

4.2.2 Ergebnisse MMP-8

Ein Vergleich der Daten von MMP-8 der initialen Untersuchung ($n=148$) und des 1. Recall ($n=132$) zeigt mit $p=0,927$ keinen signifikanten Unterschied.

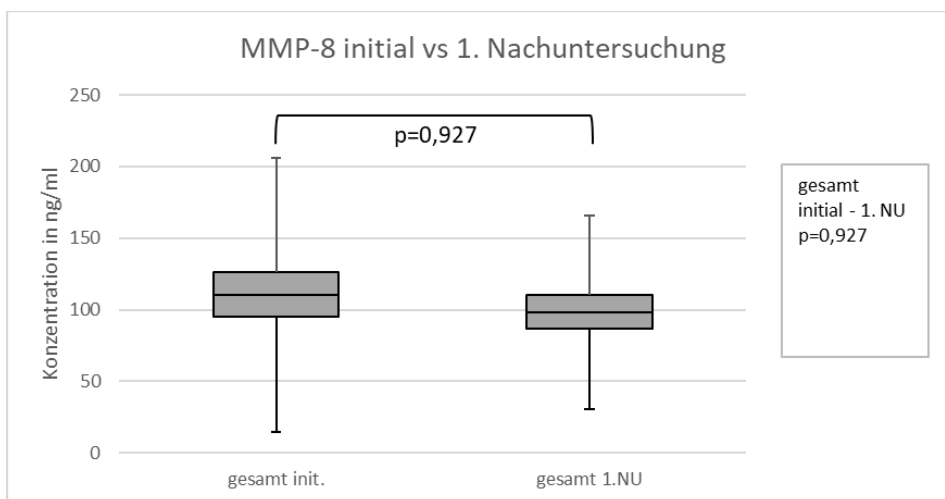


Abb. 25: MMP-8, gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung ($p=0,927$)

4.2.2.1 Vergleich nach Geschlecht

Nachfolgend wurden die Einzelgruppen der Männer (Initial $n=79$, erste Nachuntersuchung $n=72$) und Frauen (Initial $n=69$, erste Nachuntersuchung $n=60$) gegeneinander auf signifikante Unterschiede geprüft. Vergleicht man die Werte der Männer zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 17,17 ng/ml ($\pm 14,66$ ng/ml), was durch den Mann-Whitney-Test mit $p=0,777$ als nicht signifikant wird. Vergleicht man die Werte der Frauen zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich mittlere Differenz von 6,58

ng/ml ($\pm 12,76$ ng/ml) was im Mann-Whitney-Test mit $p=0,864$ ebenfalls als nicht signifikant gewertet wird. Innerhalb der initialen Untersuchung unterscheiden sich die Mittelwerte der Männer (118,54 ng/ml $\pm 12,05$ ng/ml) von denen der Frauen (101,10 ng/ml $\pm 9,72$ ng/ml) in der deskriptiven Statistik zu wenig und weisen mit $p=0,271$ keinen signifikanten Unterschied auf. Zur ersten Nachuntersuchung verändert sich das Bild nur unwesentlich. Hier weisen die Mittelwerte der Männer (101,36 ng/ml $\pm 8,35$ ng/ml) einen geringeren Unterschied zu dem der Frauen (94,52 ng/ml $\pm 8,28$ ng/ml) auf. Die Auswertung mittels Mann-Whitney-Test ($p=0,243$) ergibt wiederum keinen signifikanten Unterschied.

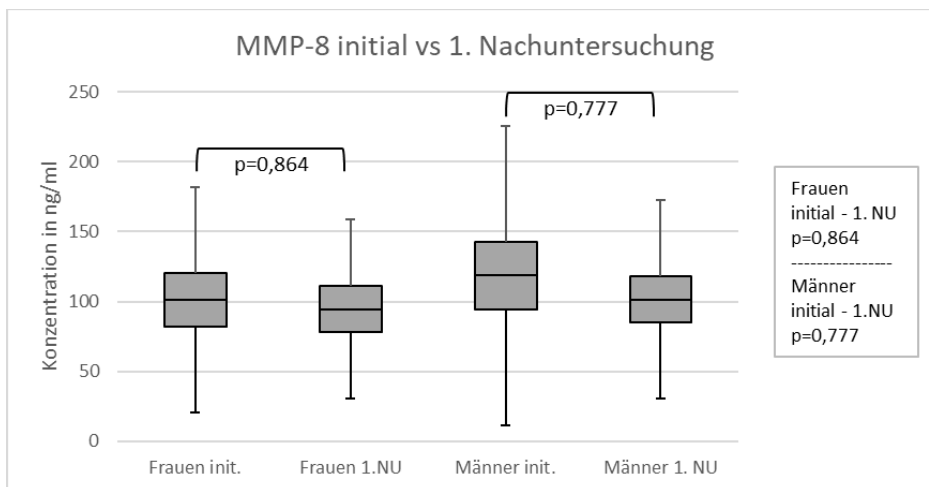


Abb. 26: MMP-8, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen ($p=0,864$) vs. Männer ($p=0,777$)

4.2.2.2 Vergleich nach Raucherstatus

Nachfolgend wurden die Einzelgruppen der Raucher (Initial $n=54$, erste Nachuntersuchung $n=45$) und Nichtraucher (Initial $n=98$, erste Nachuntersuchung $n=83$) gegeneinander auf signifikante Unterschiede geprüft. Vergleicht man die Werte der Raucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 18,26 ng/ml ($\pm 19,50$ ng/ml). Der Mann-Whitney-Test sieht diesen Unterschied mit $p=0,720$ nicht als signifikant an. Vergleicht man die Werte der Nichtraucher zwischen der initialen Untersuchung und der ersten Nachuntersuchung so zeigt sich eine mittlere Differenz von 9,08 ng/ml ($\pm 11,11$ ng/ml).

Während der initialen Untersuchung unterscheiden sich die Mittelwerte der Raucher (131,46 ng/ml $\pm 15,19$ ng/ml) von denen der Nichtraucher (100,69 ng/ml $\pm 9,04$ ng/ml) in der deskriptiven Statistik nicht stark genug voneinander und weisen mit $p=0,146$ (Mann-

Whitney) keinen signifikanten Unterschied auf. Für die ersten Nachuntersuchung verändert sich das Bild kaum. Hier weisen die Mittelwerte der Raucher (113,21 ng/ml \pm 12,16 ng/ml) einen noch geringeren Unterschied zu dem der Nichtraucher (91,61 ng/ml \pm 6,46 ng/ml) auf. Die Auswertung durch den Mann-Whitney-Test zeigt mit $p=0,204$ ebenfalls keinen signifikanten Unterschied.

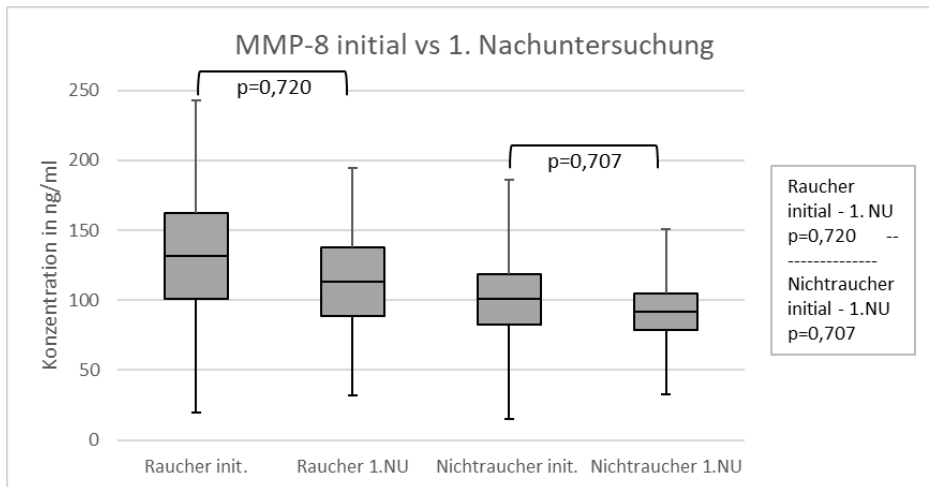


Abb. 27: MMP-8; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ($p=0,720$) vs. Nichtraucher ($p=0,707$)

4.3 Korrelationsanalysen

Für die Korrelationsanalysen werden die Korrelationen der untersuchten Parameter (Geschlecht, Rauchen, ST, BOP, Plaque, SP-D, MMP-8 sowie die pathogenen Bakterien) untereinander betrachtet. Für die Interpretation der Korrelationsanalyse ist zu beachten, dass sie alle untersuchten Patienten inklusive der 2. Nachuntersuchung beinhaltet.

4.3.1 Auswertung der klinischen Parameter

Die Ergebnisse der Auswertung nach ST (all) zeigen schwache Korrelationen zur Anzahl vorhandener Zähne ($r = -0,119$; $p = 0,016$) sowie zu Knochenverlust ($r = 0,204$; $p < 0,0001$). Die Ergebnisse der Auswertung nach BOP (all) zeigen eine mittlere Korrelation zu ST (all) ($r = 0,380$; $p < 0,0001$). Eine schwache Korrelation ist zu Infektion durch A.a. zu beobachten ($r = 0,137$; $p = 0,005$). Zu den Parametern Geschlecht ($r = 0,015$) und Rauchen ($r = -0,073$) zeigen sich keine Korrelationen. In Assoziation mit Plaque (all) lassen sich schwache Korrelationen mit Geschlecht ($r = 0,184$; $p < 0,0001$) und ST (all) ($r = 0,216$; $p < 0,0001$) erkennen. Ebenso zeigt sich eine schwache Korrelation mit Rauchen ($r = 0,100$, $p = 0,045$).

4.3.2 Auswertung der Biomarker

Für die Auswertung von SP-D im Blut zeigt sich eine Korrelation zur Erkrankung ($r=0,130$; $p=0,009$). Zudem zeigt sich eine negative Korrelation zu der Anzahl vorhandener Zähne ($r=-0,237$; $p<0,0001$). Zusätzlich zeigen sich schwache Korrelationen zum Rauchen ($r=0,157$; $p=0,002$) und dem Alter des Patienten ($r=0,154$; $p=0,002$). Die Auswertung von MMP-8 zeigt eine schwache Korrelation mit Rauchen ($r=0,121$; $p=0,017$).

4.3.3 Auswertung der Infektion durch pathogene Bakterien

Die Infektion durch A.a. zeigt sich eine schwache Korrelation mit BOP (all) ($r=0,137$; $p=0,005$) und eine weitere schwache Korrelation zu der Anzahl vorhandener Zähne ($r=0,107$; $p=0,027$). Zusätzlich zeigen sich schwache Korrelationen zwischen A.a. und den Bakterien P.g. ($r=0,114$; $p=0,016$), F.n. ($r=0,198$; $p<0,0001$) und P.m. ($r=0,114$; $p=0,017$). Das Bakterium P.g. zeigt eine starke Assoziation mit F.n. ($r=0,520$; $p<0,0001$), während sich zu T.f. nur eine schwache Assoziation von $r=0,216$ ($p<0,0001$) beobachten lässt, ebenso wie zu P.i. ($r=0,137$; $p=0,005$) beobachten. Für T.f. lassen sich weitere schwache Assoziationen mit den Bakterien P.i. ($r=0,314$; $p<0,0001$), F.n. ($r=0,332$; $p<0,0001$) und P.m. ($r=0,351$; $p=0,001$) feststellen. Der Keim P.i. zeigt eine schwache Assoziation zu F.n. ($r=0,155$; $p=0,001$) und P.m. ($r=0,247$; $p<0,0001$). Für P.m. zeigt sich eine schwache Assoziation zu F.n. ($r=0,151$; $p=0,001$). Die Infektion durch T.d. weist schwache Korrelationen zu den klinischen Parametern Plaque (all) ($r=0,132$; $p=0,008$) sowie ST (all) ($r=0,160$; $p=0,001$) auf. Zudem zeigen sich Korrelationen zwischen T.d. und den Bakterien A.a. ($r=0,127$; $p=0,007$), P.g. ($r=0,161$; $p=0,001$), F.n. ($r=0,225$; $p<0,0001$), P.i. ($r=0,295$; $p<0,0001$), T.f. ($r=0,407$; $p<0,0001$) und P.m. ($r=0,195$; $p<0,0001$).

4.3.4 Auswertung der Einzelgruppen

Die Ergebnisse der Auswertung nach Geschlecht zeigen keine Assoziation zu dem Risikofaktor Rauchen ($r=0,004$). Die Auswertung nach ST (all) zeigt eine schwache Korrelation ($r=0,133$; $p=0,007$). Ebenso zeigt sich eine schwache Korrelation mit Plaque (all) ($r=0,184$; $p<0,0001$). Für die Auswertung nach „Rauchen“ zeigen eine schwache Korrelation zu Anzahl der Zähne ($r=-0,130$; $p=0,007$), zu Knochenverlust ($r=0,127$; $p=0,008$) sowie zu dem Keim P.g. ($r=-0,119$; $p=0,014$). Die stärkste Korrelation von Rauchen besteht mit dem Parameter ST (all) ($r=0,366$; $p<0,0001$).

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methoden

5.1.1 Auswahl der Studienpopulation

Von den 151 Patienten aus der initialen Untersuchung, zu denen Messergebnisse vorliegen, konnten sechs Monate später zum 1. Recall je nach Parameter zwischen 132 und 146 Patienten in die Studie einbezogen werden. Da auch andere inflammatorische Erkrankungen die systemische SP-D und MMP-8 Expression beeinflussen können [83] [84] [106] [175] [176], wurden Patienten mit einer Erkrankung an Diabetes mellitus und bekannten systemischen Infektionserkrankungen von der Studie ausgeschlossen, um das Risiko verfälschter Ergebnisse zu reduzieren [177]. Die gewählten Ausschlusskriterien trugen somit zu einer aussagefähigen Studienpopulation bei.

5.1.2 Therapie

Die Therapie wurde von Studenten der klinischen Semester nach dem Stand der Wissenschaft durchgeführt. Die Anzahl der Studenten und die fehlende Routine mit der Parodontistherapie könnte möglicherweise zu Messfehlern in der Befunderhebung geführt haben. Aus diesem Grund wurde jeder Patient von einem der beiden zuständigen Zahnärzte kontrolliert und die Therapie- sowie Messergebnisse wurden validiert. Dieses Vorgehen stellt eine gute Qualitätssicherung in der Befund- und Datenerhebung dar. Für die Teilnehmer der Studie kam während der ersten beiden Behandlungsintervalle keine adjuvante antibiotische Therapie zum Einsatz. Die Kriterien gemäß der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie für eine adjuvante antibiotische Therapie ab der initialen Behandlung waren für die untersuchten Fälle nicht gegeben [151] [145]. Demnach wäre eine antibiotische Therapie erst ab dem 1. Recall in Betracht zu ziehen gewesen. Die Auswirkung dessen können sich demnach erst in der Auswertung der Ergebnisse im Vergleich zum 2. Recall zeigen.

5.1.3 Zeitintervall der Bestimmung

Die Therapie wurde in Intervallen von ca. sechs Monaten durchgeführt, um die Behandlungserfolge zu dokumentieren und ggf. Folgebehandlungen durchzuführen. Das Intervall von sechs Monaten ist für die Reevaluierung und eventuelle Nachbehandlungen aktueller Stand der Wissenschaft. In der Literatur finden sich Studien, die den unmittelbaren

Zusammenhang zwischen der erfolgten Therapie und den lokalen Befunden der Markermoleküle untersuchten. Diese nutzten einen Abstand von einem Monat zwischen Befund bzw. Behandlung und erneuter Messung der Konzentrationen der Markermoleküle [104] [103]. Da das Potential von Parodontitis-unabhängigen Ursachen für die systemische Expression der Markermoleküle gegenüber der lokalen Expression in Speichel oder Sulkusflüssigkeit deutlich höher ist, steigt der Einfluss anderer Faktoren mit einem länger werdenden Zeitabstand zur Kontrollmessung an. Es ist zu vermuten, dass ein verkürzter Zeitraum, abweichend von den gültigen Richtlinien, zwischen Behandlung und erneuter Erhebung der Konzentration der Markermoleküle, die mögliche diagnostische Wertigkeit besser nachweisen kann. Alternativ könnte die Erhebung von Erkrankungen seit der letzten Behandlung, die mit inflammatorischen Prozessen einhergehen, wie z.B. eine Infektion der Atemwege, zu nachträglichen Ausschlüssen in der statistischen Auswertung diesen Einfluss kompensieren.

5.2 Eignung SP-D als Biomarker

Die ursprüngliche Identifikation von SP-D als Teil der Immunantwort im pulmonalen Gewebe hat in verschiedenen Studien belegen können, dass SP-D einen maßgeblichen Beitrag zur Diagnose einer inflammatorischen Erkrankung im Allgemeinen leistet [71] [72]. Im weiteren Verlauf konnte SP-D in sehr ähnlicher Funktion auch im parodontalen Gewebe und im Blut nachgewiesen werden [78] [80]. Die konkrete Eignung der Stärke der parodontalen SP-D Expression als diagnostischem Biomarker wurde bereits in einer früheren Studie bestätigt. Da es sich bei der Parodontitis ebenfalls um eine entzündliche Erkrankung handelt und ein Zusammenhang der Erkrankung mit der lokalen Konzentration von SP-D im Speichel nachgewiesen werden konnte [73], lag die Vermutung nahe, dass die systemische Konzentration von SP-D ebenfalls als Indikator für parodontale Entzündungsprozesse dienen könnte. In einer der bislang wenigen Studien in diesem Kontext konnte gezeigt werden, dass die Durchschnittswerte von systemischem SP-D im Plasma bei einer chronischen Parodontitis im Vergleich zu gesunden Probanden erhöht sind [78]. Die Mittelwerte der SP-D Konzentrationen dieser Arbeit weisen während der initialen Untersuchung einen weit höheren Wert (146,2 ng/ml) auf, als in der vorangegangenen Studie. Diese starke Abweichung lässt vermuten, dass die systemische Konzentration von SP-D einen signifikanten Aufschluss über das Gesamtniveau inflammatorischer Prozesse geben kann. Ebenso sollten sich auch vorangegangene Studien bestätigen lassen, in denen

gezeigt wurde, dass SP-D grundsätzlich bei männlichen Probanden und Rauchern erhöht ist [85]. Die aktuelle Studienlage bestätigt zwar grundsätzlich die diagnostische Wertigkeit von SP-D zur Indikation einer Parodontitis, jedoch sind noch keine verlässlichen Werte über Konzentrationen von SP-D als Referenz eines gesunden menschlichen Organismus in der Literatur zu finden. Die Tatsache, dass SP-D nicht nur als Antagonist bei einer Parodontitis aktiv ist, sondern auch bei anderen inflammatorischen Prozessen z.B. auch im nasopharyngealen Bereich, zeigt die Schwierigkeit einer lokalen Abgrenzung bzw. Zuordnung [76] [80] [77] [73]. Ein systemischer Nachweis erschwert die Lokalisation einer Entzündung jedoch noch mehr, da eine Vielzahl möglicher Ursachen zugrunde liegen kann [75]. Vor diesem Hintergrund muss die Eignung von SP-D als Biomarker in seinem systemischen bzw. lokalen Nachweis differenziert betrachtet werden. Die vielfältigen potenziellen Entzündungsprozesse im oralen und nasopharyngealen Bereich ziehen jeweils eine erhöhte Aktivität von SP-D nach sich, so dass die Bewertung der Konzentration von SP-D lediglich als Indikator von inflammatorischen Prozessen im Allgemeinen geeignet ist.

5.3 Eignung MMP-8 als Biomarker

Der Nachweis von aMMP-8 in der Sulkusflüssigkeit wurde bereits früher für den Einsatz in der Diagnose der Parodontitis geprüft [178] [179] [180]. Die Eignung von aMMP-8 im Blut als diagnostischer Marker konnte in einer aktuell erschienenen Studie bestätigt werden. Hier wurde der parodontale Status sowohl mit der aMMP-8 Konzentration im gingivalen Sulkus als auch im Serum untersucht. Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen parodontalem Status, aMMP-8 Konzentration im Sulkus und der Konzentration im Serum nachgewiesen werden [97]. Weiterhin wurde gezeigt, dass es einen signifikanten Zusammenhang zwischen den Sondierungstiefen der parodontalen Taschen und der dort gemessenen MMP-8-Konzentration gibt [98]. Es konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden, dass die Expression des MMP-8 nach einer systematischen Therapie der Parodontitis signifikant gesunken war [103] [104].

Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese der vorliegenden Arbeit. Jedoch konzentriert sich die Forschung bislang bei MMP-8 als Biomarker im Blut vorrangig auf den Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen [105] [106]. Der direkte Zusammenhang von MMP-8 Konzentrationen im Blut und einer Parodontitis ist in der Literatur bislang weit weniger konkret betrachtet, als der Zusammenhang von MMP-8 aus

der Sulkusflüssigkeit oder Speichel [47] [88] [97] [98]. Eine Ursache hierfür könnte die deutlich erhöhte Komplexität sein. Oral vorkommendes MMP-8 lässt sich in der Regel direkt mit einer Parodontitis assoziieren, sofern man den Raucherstatus berücksichtigt. So zeigt sich bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern auch unabhängig von einer Parodontitis eine erhöhte MMP-8 Expression in der Sulkusflüssigkeit [177], wohingegen sich dieser Effekt in der MMP-8 Konzentration im Serum nicht bestätigt [181]. Insgesamt sind die möglichen Ursachen für eine erhöhte MMP-8 Konzentration im Blut vielfältig. So führen kardiovaskuläre Erkrankungen wie z.B. Atherosklerose oder rheumatische Arthritis unabhängig von Parodontitis zu erhöhten MMP-8 Werten im Blut [176] [175] [106]. Um die diagnostische Wertigkeit von systemischem MMP-8 besser beurteilen zu können erscheint es sinnvoll, den Zusammenhang zwischen MMP-8 Konzentrationen im Blut und der Parodontitis mit der Auswertung von MMP-8 Werten aus der Sulkusflüssigkeit und dem Speichel zu vergleichen und damit abzusichern [97], oder die möglichen anderen Einflussfaktoren auf zirkulierendes MMP-8 in der Auswahl der Studienpopulation zu berücksichtigen, um möglichst auf Parodontitis isolierte Ergebnisse zu erhalten.

5.4 Diskussion der Ergebnisse

Im Vergleich der initialen Behandlung und erste Nachsorge, zeigten sich signifikante Verbesserung der klinischen Parameter und damit eine erfolgreiche Therapie der Parodontitis. Die mittlere Sondierungstiefe ist in der Betrachtung ST (all) initial geringer als der definierte Schwellenwert von $>3,0$ mm als Grundlage einer Parodontitisdiagnose [143]. Die Blutungsneigung bei Sondierung sank von 0,35 während der initialen Untersuchung auf 0,26 im 1. Recall. Einzig die Werte der Plaque-Besiedelung für Frauen und Raucher zeigen im Vergleich der initialen Untersuchung zum 1. Recall zwar einen Rückgang der Werte, der sich jedoch nicht für eine statistische Signifikanz ausreicht.

Aus den Korrelationsanalysen geht zusätzlich hervor, dass es eine Assoziation von BOP (all) und ST (all) ($r=0,380$ bei $p=0,000$) gibt, wohingegen die Blutungsneigung selbst weder mit dem Geschlecht noch mit dem Rauchverhalten assoziiert ist. Jedoch ist sowohl das Rauchverhalten ($r= 0,366$ bei $p=0,000$) als auch die Plaquebesiedelung ($r= 0,216$ bei $p=0,000$) mit der Sondierungstiefe assoziiert. Es zeigte sich zwar keine Assoziation der Geschlechter mit dem Rauchverhalten, jedoch eine schwache Korrelation von Sondierungstiefe und Geschlecht ($r=0,133$ bei $p=0,007$), in der Untergruppe der Männer.

Somit erklärt sich durch den höheren Plaque-Index die durchschnittlich größere Sondierungstiefe bei Männern. Diesen Daten nach weisen rauchende Männer statistisch die tiefsten Parodontaltaschen auf, wodurch das Risiko von Zahnverlust begünstigt wird (ST / Anzahl vorhandener Zähne $r = -0,119$ bei $p = 0,016$).

Anders verhalten sich die systemisch gemessenen Markermoleküle. Die gemessene Konzentration von SP-D in der initialen Untersuchung zeigen zum 1. Recall keine nennenswerte Reduktion der Werte. Für Frauen und Raucher ist sogar ein leichter Anstieg zu beobachten. Die Ergebnisse der vorangegangenen Studie können nicht bestätigt werden [78]. Etwas verändert zeigen sich die Werte der MMP-8 Messungen. Über alle Gruppen ist ein Rückgang der Werte zu beobachten, jedoch reicht die Reduktion nicht aus, um den Unterschied als signifikant zu werten. Allerdings weisen die Werte von MMP-8 einen Standardfehler zwischen 8% und 12% auf, je nachdem welche Einzelauswertung betrachtet wird und liegen damit deutlich über dem Niveau der anderen Tests.

Auf den ersten Blick scheinen diese Einzelergebnisse nicht zusammenzupassen. Betrachtet man die Ergebnisse der klinischen Parameter und der Markermoleküle aus den ersten beiden Untersuchungsintervallen, so zeigt sich kein Zusammenhang zwischen Parodontalerkrankung und der systemischen Konzentrationen der Markermoleküle. Gemessen an den Verbesserungen der klinischen Parameter zur ersten Nachuntersuchung gilt die Therapie während der initialen Behandlung als erfolgreich. Die fehlende Korrelation des nachgewiesenen Therapieerfolgs und der systemischen Konzentration der Markermoleküle spricht gegen deren diagnostische Wertigkeit. In diesem Kontext ist zu beachten, dass es trotz der Verbesserung der klinischen Parameter einen erhöhten Anteil der Patienten mit nachgewiesenen parodontalpathogenen Bakterien gibt, wodurch ein verbleibend hohes Niveau der Markermoleküle plausibel wäre. Ein Blick in die zugrundeliegenden Richtlinien liefert zumindest Anhaltspunkte zur Erklärung. Hierzulande ist es gängige Lehrmeinung und offizielle Position der Fachgesellschaften, dass eine wirksame Parodontitis-Therapie nur in besonderen Fällen aus den beiden Elementen der mechanischen Plaque-Entfernung und einer antibiotischen Behandlung zu bestehen hat. Die antibiotische Behandlung ist nur für aggressive bzw. schwere Parodontiden oder langanhaltende chronische Parodontiden, deren vorangegangene Behandlung keinen ausreichenden Therapieerfolg gezeigt hatte, vorgesehen [151]. Folgerichtig war die konsequente antibiotische Behandlung kein Bestandteil der

untersuchten Behandlungsintervalle. Dagegen raten einige internationale Studien bereits seit über 20 Jahren auch im Fall einer chronischen Parodontitis zur Kombination beider Therapieformen. Demnach sind zwar auch rein mechanische Therapieformen wirksam, eine kombinierte Parodontitistherapie, bestehend aus mechanischer Plaque-Entfernung und der Gabe spezieller Antibiotika, zeigt dagegen die besten Ergebnisse [162] [161] [164] [182] [183] [184]. Hier könnte eine Ursache liegen, weshalb trotz positiver Befunde hinsichtlich der Sondierungstiefe, Blutungsneigung und Plaque-Besiedelung, der Anteil der Patienten mit positivem Keimbefund tendenziell eher anstieg.

Neben den klinischen Parametern und der Bestimmung der Markermoleküle diene die Bestimmung der pathogenen Infektion der Überprüfung einer Korrelation zwischen der Infektion und der systemischen Konzentration von MMP-8 und SP-D. In den Korrelationsanalysen konnte gezeigt werden, dass bis auf eine einzelne schwache Assoziation zwischen BOP (all) und A.a. ($r=0,137$ bei $p=0,005$) keine nennenswerte Assoziation zwischen den klinischen Parametern und den untersuchten Bakterien besteht. Daraus kann man ableiten, dass ein sichtbarer Behandlungserfolg durch verbesserte klinische Parameter, keinen Rückschluss auf die Reduktion der auslösenden Bakterien zulässt. Gemessen wurden die Anzahl und der Anteil der Patienten, bei denen die jeweiligen Bakterien nachgewiesen werden konnten. Entgegen den Ergebnissen aus Sondierungstiefe, Blutungsneigung und Plaque-Besiedelung stieg der Anteil der Patienten mit nachgewiesenen PA-Bakterien T.f., P.i., P.m. und F.n. sogar an. Für die Bakterien T.f., P.i. und P.m. ist der Anstieg sogar signifikant ($p \leq 0,0001$ für T.f., P.i. und $p=0,045$ für P.m.). Dem gegenüber verzeichnet der Anteil der Patienten mit den Bakterien A.a., P.g. und T.d. einen Rückgang von der initialen Untersuchung zur ersten Nachuntersuchung. Für A.a. ($p=0,942$) und P.g. ($p=0,816$) zeigt sich aus den Ergebnissen keine Signifikanz. Lediglich für T.d. zeigt sich mit $p=0,011$ ein signifikant sinkender Anteil der Patienten mit pathogener Infektion.

Da der Nachweis der Bakterien erst in der Folgeuntersuchung zur durchgeführten Behandlung geführt wurde, liegt hier eine mögliche Erklärung der ausbleibenden Reduktion in der Konzentration der Biomarker im untersuchten Behandlungsintervall. Betrachtet man den Nachweis der einzelnen Bakterien, so zeigt ein hoher Anteil der Patienten eine Belastung mit PA-Bakterien aus dem roten Komplex. Es muss von einer unvollständigen Entfernung der Bakterien durch die rein mechanische Therapie ausgegangen werden. Tiefliegende und

schwer erreichbare Bakterienherde, die sich z.B. an Furkationen ansammeln können und für das zahnmedizinische Instrumentarium nur schwer bis gar nicht erreichbar sind, können so bestehen bleiben und für konstant hohe Entzündungswerte sorgen, selbst wenn die klinischen Parameter einen klaren Behandlungserfolg dokumentieren. Es ist daher für den langfristigen Erfolg der Therapie essenziell, das Vorkommen der parodontopathogenen Bakterien signifikant zu senken. Hierzu nennen verschiedene Studien die Gabe von Doxycyclin, Tetracyclin und Metronidazol als wirkungsvolle Antibiotika [147] [158] [165].

Die Auswertung von SP-D zeigt in den beiden Untersuchungsintervallen innerhalb der Gruppen nahezu identische Werte. Während die systemische Konzentration bei Männern im Laufe der Behandlung leicht sank, stieg er bei Frauen an. Auch beim Vergleich der Raucher und Nichtraucher zeigt sich ein sehr ähnliches Bild. Zwar haben Nichtraucher insgesamt eine niedrigere Konzentration als Raucher, die Veränderungen zwischen den Untersuchungsintervallen sind für beide Gruppen jedoch nur marginal. Diese Auswertung steht im Widerspruch zu einer früheren Studie, in der für männliche Teilnehmer und Raucher ein grundsätzlich höheres Niveau von SP-D nachgewiesen wurde [85].

Die Besiedelung mit den untersuchten Bakterien wurde rein qualitativ gemessen. So wurden die Anzahl und der Anteil der Patienten ausgewertet, bei denen die untersuchten Bakterien nachgewiesen werden konnten. Aus den Daten der Studie lässt sich keine Aussage über das quantitative Vorkommen der Bakterien der Patienten ableiten. Aus dem quantitativen Vergleich zwischen den nachgewiesenen Bakterien und den Markermolekülen hätten sich weitere Rückschlüsse ziehen lassen können. Vor dem Hintergrund, dass SP-D ein Protein ist, das als Antagonist eines Entzündungsprozesses auftritt, darf davon ausgegangen werden, dass seine Konzentration mit der Konzentration der entzündungsfördernden Bakterien bis zu einem gewissen Maße ansteigt bzw. absinkt. Da bei einer bestehenden Parodontitis die gewebedestruktiven Prozesse die der regenerativen deutlich übersteigen [45] [46], ist davon auszugehen, dass es keinen gleichartigen Anstieg beider Marker gibt. Eine ähnliche Vermutung besteht für das aktiv an den gewebedestruktiven Prozessen beteiligte MMP-8. Je intensiver die individuelle Infektion, desto höhere aMMP-8 Konzentrationen sollten zu erwarten sein. Es ist anzunehmen, dass eine signifikante Reduktion der systemischen Markermoleküle erst dann zu erwarten ist, wenn die Ursachen der Expression dieser auf ein Maß reduziert wurden, ab dem sich die natürliche Homöostase wieder einstellt. Hierzu ist

die Reduktion der PA-assoziierten Bakterien unerlässlich. In der Folge müsste auch die Konzentration der Markermoleküle sukzessive absinken. Diese These kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie jedoch nicht validiert werden.

Es lässt sich anhand der Daten feststellen, dass Frauen im Allgemeinen eine bessere Mundhygiene aufweisen, als Männer. Damit bestätigt auch diese Studie die allgemeine Beobachtung zur Mundhygiene und unterstreicht in diesem Punkt die Repräsentativität der Studie. So zeigen sie sowohl bei den Sondierungstiefen als auch bei der Plaque-Besiedelung die niedrigeren Werte als Männer. Dazu passend weisen Frauen auch einen deutlich niedrigeren Wert bei aMMP-8 auf als Männer. Sowohl bei der Plaque-Besiedelung als auch bei den aMMP-8 Werten zeigen Frauen bereits bei der initialen Untersuchung bereits bessere Werte, als Männer in der ersten Nachuntersuchung. Männer weisen zwar den absolut stärkeren Rückgang beider Werte auf, gemessen am hohen Ausgangswert ist ein stärkerer Effekt allerdings auch eher zu erwarten. Bei der Blutungsneigung weisen Frauen zur initialen Untersuchung zwar einen nahezu identischen Wert wie Männer auf, zeigen nach der Behandlung aber einen deutlicheren Rückgang. Da es in der Behandlung im Zuge der Studie keinen Unterschied zwischen Männern und Frauen gegeben hat, kann davon ausgegangen werden, dass Frauen sorgsamer in der eigenen Zahnpflege waren. Für den Vergleich der Raucher mit den Nichtrauchern zeigt sich ein sehr ähnliches Bild. Nichtraucher haben durchgehend über alle Untersuchungen die besseren Werte als Raucher, mit der einzig Ausnahme der Blutungsneigung, die bei Rauchern im Allgemeinen niedriger ist als bei Nichtrauchern [112].

Der vermutete Zusammenhang zwischen den beiden untersuchten Markermolekülen und der Parodontitis konnte in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Jedoch lassen die betrachteten Behandlungsintervalle und diskutierten Richtlinien einer adjuvanten antibiotischen Therapie, deren Erfolg sich erst in den folgenden Behandlungsintervallen zeigen kann, keine abschließende Beurteilung der diagnostischen Wertigkeit der untersuchten Markermoleküle zu. Zumindest scheinen die zeitgleich hohen Werte von SP-D als Gegenspieler einer Entzündung sowie aMMP-8 als aktiv gewebedestruktives Enzym und der hohe Anteil an Patienten mit einem Nachweis von pathogenen Bakterien als ein Indiz eines Zusammenhangs zwischen den Markermolekülen und der Erkrankung. Nachdem für aMMP-8 im Serum zumindest die Tendenz für einen Rückgang der Werte erkennbar war

und dieser Rückgang durch alle Gruppen hinweg gleichzeitig zu einer reduzierten Plaque-Besiedelung beobachtet werden konnte, bleibt die Vermutung bestehen, dass die fehlende statistische Signifikanz nicht abschließend auf einen tatsächlich nicht vorhandenen Zusammenhang zurückzuführen sein muss. Die fehlende Nachweisbarkeit kann durchaus in den untersuchten Behandlungsintervallen begründet sein, da erst in den folgenden Behandlungsintervallen die adjuvante antibiotische Therapie ihre Wirkung entfalten konnte und durch eine gezielte Bakterienreduktion potentiell auch die Expression von MMP-8 verringert haben könnte. Für SP-D ist zwar aus dieser Arbeit keine Tendenz erkennbar, aber hier konnte der Zusammenhang bereits in früheren Studien nachgewiesen werden [78]. So lässt sich für dieses Markermolekül vermuten, dass die fehlende Reduktion der pathogenen Bakterien und damit das Fortbestehen der entzündlichen Prozesse eine verminderte Ausschüttung des Surfactant-Proteins-D gar nicht möglich war. Da SP-D Teil eines biologischen Gleichgewichts der gesunden Mundflora ist, muss angenommen werden, dass ein bestimmtes Maß an inflammatorischen Prozessen zunächst unterschritten werden muss, bevor sich auch die systemische Konzentration des SP-D reduziert.

6 Zusammenfassung

Diese Studie untersuchte die Wertigkeit der systemischen Expression von SP-D und MMP-8 zur Verlaufskontrolle der Parodontitis. Dazu wurden in venösen Blutproben die Konzentrationen von SP-D und MMP-8 vor und sechs Monate nach einer indikationsgerechten parodontologischen Behandlung von 150 Patienten bestimmt. Die Diagnose der Parodontitis wurde nach einer standardisierten klinischen und radiologischen Untersuchung aller Patienten an Hand von definierten Kriterien gestellt. Zusätzlich erfolgte eine mikrobiologische Untersuchung der parodontalen Taschen.

In der Gesamtpopulation zeigten die klinischen Befunde im Vergleich der initialen zur ersten Nachuntersuchung eine signifikante Verbesserung der gemessenen Werte. Sowohl die Sondierungstiefen als auch die Blutungsneigung nach Sondierung nahmen durch die Therapie signifikant ab. Gleichzeitig konnte für Bakterien der Spezies *Treponema denticola* eine signifikante Reduktion der Infektion nachgewiesen werden nicht aber für die übrigen fünf getesteten parodontalpathogenen Bakterien. Die systemische Expression von MMP-8 war in der Gesamtpopulation vor und sechs Monate nach der parodontalen Therapie nicht unterschiedlich. Die Konzentration des SP-D zeigte nach der parodontalen Therapie tendenziell eine Verringerung. Nach der statistischen Analyse der Ergebnisse erreichte dieser Unterschied jedoch ebenfalls keine Signifikanz. Auch nach Stratifikation der Studienkohorte nach dem Geschlecht und dem Rauchverhalten, konnte keine signifikant unterschiedliche systemische Expression der beiden Markermoleküle MMP-8 und SP-D vor und nach der Parodontaltherapie angetroffen werden.

Zusammenfassend führte die Therapie der Parodontitis nach sechs Monaten zur erwarteten signifikanten Verbesserung der klinischen Befundparameter gleichzeitig aber nicht zu einer Veränderung der systemischen Expression von MMP-8 und SP-D. Die Bestimmung der systemischen Konzentrationen dieser beiden Markermoleküle scheint deshalb zur Kontrolle des parodontalen Erkrankungsverlaufs im Zeitraum von sechs Monaten nicht ausreichend zuverlässig zu sein.

7 Literaturverzeichnis

- [1] M. Tonetti, H. Greenwell und K. Kornman, „Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition,“ J Periodontol., 2018.
- [2] S. Reddy, Essentials of Clinical Periodontology and Periodontics, Jaypee Brothers, Medial Publishers Pvt. Limited, 2014.
- [3] P. Marsh, „Are dental diseases examples of ecological catastrophes?,“ Microbiology., 2003.
- [4] X. Li, K. Kolltveit, L. Tronstad und I. Olsen, „Systemic diseases caused by oral infection,“ Clin Microbiol Rev., 2000.
- [5] A. R. Jordan und W. Micheelis, „Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie,“ Institut der deutschen Zahnärzte, 2016.
- [6] E. Hellwig und J. Klimek, Einführung in die Zahnerhaltung, Bd. 5. überarbeitete Auflage, Deutscher Zahnärzte Verlag, 2009, pp. 471-82.
- [7] R. Hickel, M. Folwaczny und P. Wöhrle, „Parodontitis und andere Parodontopathien,“ in *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie*, Bd. 17, Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2001, pp. 110-127.
- [8] F. Scannapieco, Periodontal inflammation: from gingivitis to systemic disease, Compend contin Educ Dent. , July 2004, pp. 16-25.
- [9] M. Tonetti, T. Van Dyke, workshop und w. g. 1. o. t. j. EFP/AAP, „Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases,“ J Periodontol., 2013.
- [10] A. Pradeep, P. Hadge, P. Arjun Raju, S. Shetty, K. Shareef und G. CN, „Periodontitis as a risk factor for cerebrovascular accident: a case-control study in the Indian population,“ J Periodontal Res., 2010.

- [11] K. Graf, „Die Erkrankungen des Parodonts aus ganzheitlicher Sicht,“ *GZM - Praxis und Wissenschaft*, pp. 6-12, 3 2001.
- [12] K. Costa, Z. Taboza, G. Angelino, V. Silveira, R. J. Montenegro, A. Haas und R. Rego, „The Influence of Periodontal Disease on Changes of Glycated Hemoglobin Levels in Type 2 Diabetics: a Retrospective Cohort Study,“ *J Periodontol.*, 2016.
- [13] H. Jansson, E. Lindholm, C. Lindh, L. Groop und G. Bratthall, „Type 2 diabetes and risk for periodontal disease: a role for dental health awareness,“ *J Clin Periodontol.*, 2006.
- [14] L. Chen, B. Wei, J. Li, F. Liu, D. Xuan, B. Xie und J. Zhang, „Association of periodontal parameters with metabolic level and systemic inflammatory markers in patients with type 2 diabetes,“ *J Periodontol*, 2010.
- [15] W. Nesse, A. Linde, F. Abbas, F. Spijkervet, P. Dijkstra, E. de Brabander, I. Gerstenbluth und A. Vissink, „Dose-response relationship between periodontal inflamed surface area and HbA1c in type 2 diabetics,“ *J Clin Periodontol.*, 2009.
- [16] P. Jitprasertwong, N. Charadram, S. Kumphune, S. Pongcharoen und S. Sirisinha, „Female sex hormones modulate *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-induced Toll-like receptor signaling in primary human monocytes,“ *J Periodontal Res.*, 2016.
- [17] S. Armar und K. Chung, „Influence of hormonal variations of the periodontium in women,“ *Periodontol 2000*, Rochester, New York, USA, 1994.
- [18] M. Malinova, „Periodontal disease and preterm birth,“ *Akush Ginkol*, Sofia, 2013.
- [19] E. Davenport, C. Williams, J. Sterne, S. Murad, V. Sivapathasundram und C. MA, „Maternal periodontal disease and preterm low birth weight: case-control study,“ Department of oral growth and development, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, University of London, London, 2002.

- [20] S. Offenbacher, V. Kath, G. Fertik, D. Collins, J. Boyd, G. Maynor, R. McKaig und J. Beck, „Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight,“ J Periodontol., 1996.
- [21] J. Vittek, M. Hernandez, Wenk, EJ, S. Rappaport und A. Southren, „Specific estrogen receptors in human gingiva,“ J Clin Endocrinol Metab., 1982.
- [22] J. Slots, „Subgingival microflora and periodontal disease,“ Clin Periodontol., 1979.
- [23] J. Aas, B. Paster, L. Stokes, I. Olsen und F. Dewhirst, „Defining the normal bacterial flora of the oral cavity,“ J Clin Microbiol., 2005.
- [24] B. Paster, S. Boches, J. Galvin, R. Ericson, C. Lau, V. Levanos, A. Sahasrabudhe und F. Dewhirst, „Bacterial diversity in human subgingival plaque,“ J Bacteriol., 2001.
- [25] S. Socransky und A. Haffajee, „Evidence of bacterial etiology: a historical perspective,“ Periodontol. 2000, 1994.
- [26] S. Socransky, A. Haffajee, M. Cugini, C. Smith, Kent und R. Jr., „Microbial complexes in subgingival plaque,“ J Clin Periodontol., 1998.
- [27] „Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors,“ Ann Periodontol., 1996.
- [28] L. Ximénez-Fyvie, A. Haffajee und S. Socransky, „Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis,“ J Clin Periodontol., 2000.
- [29] N. Arweiler und L. Netuschil, „The Oral Microbiota,“ Adv Exp Med Biol., 2016.
- [30] K. T. Hirschfeld J, „Oral inflammation and bacteremia: implications for chronic and acute systemic diseases involving major organs,“ Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets., 2015.
- [31] K. Hellwege, Die Praxis der zahnmedizinischen Prophylaxe: ein Leitfaden für die Individualprophylaxe, Gruppenprophylaxe und initiale Parodontaltherapie, Thieme Verlag, 1999, pp. 31-35.

- [32] S. Socransky und A. Haffajee, „Periodontal microbial ecology,“, Periodontol 2000, 2005.
- [33] D. G. f. P. e.V., „www.dgparo.de,“ [Online]. Available: www.dgparo.de/parodontitis/vorbeugung. [Zugriff am 23 10 2016].
- [34] G. Salvi, H. Lawrence, S. Offenbacher und J. Beck, „Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis,“, Periodontol. 2000, 1997.
- [35] H. Wolf, E. Rateischak und K. Rateischak, Farbatlanten der Zahnmedizin, Bd. Band 1 Parodontologie, Stuttgart: Thieme Verlag, 2004, p. 63.
- [36] A. Haffajee, S. Socransky und J. Goodson, „Periodontal disease activity,“, Journal of Periodontal Research, 1982.
- [37] G. C. Armitage, „Development of a classification system for periodontal diseases and conditions,“, University of California, San Fransisco, 1999.
- [38] D. G. f. Parodontologie, „Klassifikation der Parodontalerkrankungen,“, Quintessenz Verlag, Berlin, 2002.
- [39] I. f. Mikroökologie, „www.zwp-online.info,“, OEMUS MEDIA AG, 2011. [Online]. Available: www.zwp-online.info/de/fachgebiete/parodontologie/diagnostik/bakterien-als-frueher-marker-fuer-parodontitis. [Zugriff am 23 10 2016].
- [40] P. Kolenbrander, R. Andersen, D. Blehert, P. Eglund, J. Foster und R. J. Palmer, „Communication among oral bacteria,“, Microbiol Mol Biol Rev., 2002.
- [41] S. Dombrowa, „ZMK - Zahnheilkunde Management Kultur,“, 15 06 2015. [Online]. Available: https://www.zmk-aktuell.de/fachgebiete/parodontologie/story/mikrobiologisch-fundiertes-biofilmmanagement-grundlage-der-modernen-parodontitistherapie__1254.html. [Zugriff am 16 07 2017].
- [42] B. Williams, R. Pantalone und J. Sherris, Subgingival microflora and periodontitis, Journal of Periodontal Research, 1976.

- [43] S. Suerbaum, H. Hahn, G. Burchard, S. Kaufmann und T. Schulz, *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, 7. Auflage, S. Verlag, Hrsg., Stuttgart/ New York: Springer Verlag, 2012, p. 878.
- [44] S. Bhakdi und H. Hahn, „Virulenzfaktoren von Bakterien,“ in *Medizinische Mikrobiologie*, Springer Verlag, 1991, pp. 107-17.
- [45] N. Taichman, R. Dean und C. Sanderson, „Biochemical and morphological characterization of the killing of human monocytes by a leukotoxin derived from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*,“ *Infect Immun.*, 1980.
- [46] A. Busse und M. Schulze, „Diabetes und Parodontitis,“ 08 2007. [Online]. Available: http://www.klinische-sportmedizin.de/auflage_2007_2/diabetes%20und%20parodontitis.html. [Zugriff am 30 10 2016].
- [47] A. Beklen, G. Tüter, T. Sorsa, R. Hanemaaijer, I. Virtanen, T. Tervahartiala und Y. Kontinen, „Gingival tissue and crevicular fluid co-operation in adult periodontitis,“ *J Dent Res.*, 2006.
- [48] S. Holt und J. Ebersole, „*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis,“ 2005, 2005.
- [49] A. Karim, M. Kulczycka, T. Kantyka, G. Dubin, A. Jabaiah, P. Daugherty, I. Thogersen, J. Enghild, K. Nguyen und J. Potempa, „A novel matrix metalloprotease-like enzyme (karilysin) of the periodontal pathogen *Tannerella forsythia* ATCC 43037,“ *Biol Chem.*, 2010.
- [50] K. Ishihara, „Virulence factors of *Treponema denticola*,“ *Periodontol 2000.*, 2010.
- [51] K. Ohta, K. Makinen und W. Loesche, „Purification and characterization of an enzyme produced by *Treponema denticola* capable of hydrolyzing synthetic trypsin substrates,“ *Infect Immun.*, 1986.

- [52] J. Koziel, A. Karim, K. Przybyszewska, M. R.-K. M. Ksiazek, K. Nguyen und J. Potempa, „Proteolytic inactivation of LL-37 by karilysin, a novel virulence mechanism of *Tannerella forsythia*,“ *J Innate Immun.*, 2010.
- [53] J. Slots und M. Ting, „*Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment,“ *Periodontol* 2000., 1999.
- [54] B. Henderson, S. Nair, J. Ward und M. Wilson, „Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*,“ *Annu. Rev Microbiol.*, 2003.
- [55] S. Suerbaum, G. Burchard, S. Kaufmann und T. Schulz, *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, Berlin / Heidelberg: Springer Verlag, 2016, p. 909.
- [56] U. Groß, *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2013.
- [57] A. Griffen, M. Becker, S. Lyons, M. Moeschberger und E. Leys, „Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and Periodontal Health Status,“ *J Clin Microbiol.*, 1998.
- [58] K. How, K. Song und K. Chan, „*Porphyromonas gingivalis*: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line,“ *Front Microbiol.*, 2016.
- [59] J. Mysak, S. Podzimek, P. Sommerova, Y. Lyuya-Mi, J. Bartova, T. Janatova, J. Prochazkova und J. Duskova, „*Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview,“ *J Immunol Res.*, 2014.
- [60] S. Dombrowa, „Dentale Implantologie & Parodontologie,“ 03 12 2015. [Online]. Available: https://www.dimagazin-aktuell.de/parodontologie/diagnostik/story/parodontitis-im-fokus-individuelle-diagnostik-und-verantwortungsvolle-antibiotikatherapie__3408.html. [Zugriff am 16 07 2017].

- [61] H. Shah und D. Andrews, „Malate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, key markers for studying the genetic diversity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*,“ FEMS Microbiol Lett., 1994.
- [62] A. Johansson, „*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response,“ Toxins, 2011.
- [63] C. Höglund Åberg, D. Haubek, F. Kwamin, A. Johansson und R. Claesson, „Leukotoxic activity of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and periodontal attachment loss,“ PLoS One, 2014.
- [64] M. Sochalska und J. Potempa, „Manipulation of Neutrophils by *Porphyromonas gingivalis* in the Development of Periodontitis,“ Front Cell Infect Microbiol., 2017.
- [65] N. Bostanci und G. Belibasakis, „*Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen,“ FEMS Microbiol Lett., 2012.
- [66] D. Polak, O. Ferdman und Y. Hour-Haddad, „*Porphyromonas gingivalis* Capsule-Mediated Coaggregation as a Virulence Factor in Mixed Infection With *Fusobacterium nucleatum*,“ J Periodontol., 2017.
- [67] D. Polak, L. Shapira, E. Weiss und Y. Hour-Haddad, „The role of coaggregation between *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* on the host response to mixed infection,“ J Clin Periodontol., 2012.
- [68] A. Sharma, S. Inagaki, W. Sigurdson und H. Kuramitsu, „Synergy between *Tannerella forsythia* and *Fusobacterium nucleatum* in biofilm formation,“ Oral Microbiology and Immunology, 2004.
- [69] P. Lawson und K. Reid, „The roles of surfactant proteins A and D in innate immunity,“ Immunol Rev., 2000.
- [70] L. Klimek, A. Sperl, A. Glowania und O. Pfaar, „Das Surfactant-System der oberen Atemwege: Aufbau, Funktion und klinische Bedeutung,“ Allergo J., 2012.

- [71] E. Crouch, „Collectins and pulmonary host defense,“ *Am J Respir Cell Mol Biol.*, 1998.
- [72] A. Jobe, „Pulmonary surfactant therapy,“ *N Engl J Med.*, 1993.
- [73] M. Schicht, C. Stengl, S. Sel, Heinemann, F, W. Götz, A. Petschelt, M. Pelka, M. Scholz, F. Rausch, F. Paulsen und L. Bräuer, „The distribution of human surfactant proteins within the oral cavity and their role during infectious diseases of the gingiva,“ *Ann Anat.*, 2015.
- [74] U. Holmskov, S. Thiel und J. Jensenius, „Collections and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense,“ *Annu Rev Immunol.*, 2003.
- [75] R. Mason, K. Greene und D. Voelker, „Surfactant protein A and surfactant protein D in health and disease,“ *Am J Physiol.*, 1998.
- [76] L. Bräuer, S. Möschter, S. Beileke, K. Jäger, F. Garreis und F. Paulsen, „Human parotid and submandibular glands express and secrete surfactant proteins A, B, C and D,“ *Histochem Cell Biol.*, 2009.
- [77] M. Schicht, S. Knipping, R. Hirt, S. Beileke, S. Sel, F. Paulsen und L. Bräuer, „Detection of surfactant proteins A, B, C, and D in human nasal mucosa and their regulation in chronic rhinosinusitis with polyps,“ *Am J Rhinol Allergy.*, 2013.
- [78] J. Glas, V. Beynon, B. Bachstein, J. Steckenbiller, V. Manolis, A. Euba, B. Müller-Myhsok und M. Folwaczny, „Increased plasma concentration of surfactant protein D in chronic periodontitis independent of SFTPD genotype: potential role as a biomarker,“ *Tissue Antigens.*, 2008.
- [79] J. Madsen, A. Kliem, I. Tornøe, K. Skjødt, C. Koch und U. Holmskov, „Localization of Lung Surfactant Protein D on Mucosal Surfaces in Human Tissues,“ *J Immunol.*, 2000.
- [80] L. Bräuer, M. Schicht, C. Stengl, F. Heinemann, W. Götz, M. Scholz und F. Paulsen, „Detection of surfactant proteins A, B, C, and D in human gingiva and saliva,“ *Biomed Tech (Berl).*, 2012.

- [81] J. Wright, „Immunoregulatory functions of surfactant proteins,“ *Nat Rev Immunol.*, 2005.
- [82] E. Crouch und J. Wright, „Surfactant proteins a and d and pulmonary host defense,“ *Annu Rev Physiol.*, 2001.
- [83] J. Hill, C. Heslop, S. Man, J. Frohlich, J. Connett, N. Anthonisen, R. Wise, D. Tashkin und D. Sin, „Circulating surfactant protein-D and the risk of cardiovascular morbidity and mortality,“ *Eur Heart J.*, 2011.
- [84] F. Xie, X. Wang, Z. Ding, P. Fan, L. Fan, Z. Chen und G. Ma, „Serum surfactant protein D is associated with the prognosis in patients with chronic kidney disease,“ *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2013.
- [85] G. Sørensen, J. Hjelmberg, K. Kyvik, M. Fenger, A. Høj, C. Bendixen, T. Sørensen und U. Holmskov, „Genetic and environmental influences of surfactant protein D serum levels,“ *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*, 2006.
- [86] T. Sorsa, L. Tjäderhane, Y. Kontinen, A. Lauhio, T. Salo, H. Lee, L. Golub, D. Brown und P. Mäntylä, „Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation,“ *Ann Med.*, 2006.
- [87] M. Kiili, S. Cox, H. Chen, J. Wahlgren, P. Maisi, B. Eley, T. Salo und T. Sorsa, „Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue,“ *J Clin Periodontol.*, 2002.
- [88] U. Gursoy, E. Könönen, S. Huuonen, T. Tervahartiala, P. Pussinen, A. Suominen und T. Sorsa, „Salivary type I collagen degradation end-products and related matrix metalloproteinases in periodontitis,“ *J Clin Periodontol.*, 2013.
- [89] J. Gaffney, I. Solomonov, E. Zehorai und I. Sagi, „Multilevel regulation of matrix metalloproteinases in tissue homeostasis indicates their molecular specificity in vivo,“ *Matrix Biol.*, 2015.
- [90] B. R. Klein T, „Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases,“ *Amino Acids.*, 2011.

- [91] R. Verma und C. Hansch, „Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical-biological functions and (Q)SARs,“ Bioorg Med Chem., 2007.
- [92] H. Birkedal-Hansen, „Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction,“ J Periodontal Res., 1993.
- [93] H. Birkedal-Hansen, „Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases,“ J Periodontol., 1993.
- [94] H. Nagase, R. Visse und G. Murphy, „Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs,“ Cardiovasc Res., 2006.
- [95] D. r. n. S. Schütt, „Immunpathogenese der Parodontitis,“ Deutsche Gesellschaft für Umwelt-ZahnMedizin e.V., [Online]. Available: <http://www.deguz.de/fachkreise/fachinformationen/parodontitis/immunpathogenese-der-parodontitis.html>. [Zugriff am 30 10 2016].
- [96] H. Radeke und K. Resch, Immunsystem und Infektologie, Handbuch der molekularen Medizin, D. Ganten und K. Ruckpaul, Hrsg., Springer Verlag, p. 160.
- [97] B. Noack, T. Kipping, T. Tervahartiala, T. Sorsa, T. Hoffmann und K. Lorenz, „Association between serum and oral matrix metalloproteinase-8 levels and periodontal health status,“ J Periodontal Res, 2017.
- [98] M. Kraft-Neumärker, K. Lorenz, R. Koch, T. Hoffmann, P. Mäntylä, T. Sorsa und L. Netuschil, „Full-mouth profile of active MMP-8 in periodontitis patients,“ J Periodontal Res., 2012.
- [99] N. Gupta, N. Gupta, L. Goyal, S. Moin, S. Khan, A. Gupta und S. Garg, „The influence of smoking on the levels of matrix metalloproteinase-8 and periodontal parameters in smoker and nonsmoker patients with chronic periodontitis: A clinicobiochemical study,“ J Oral Biol Craniofac Res, 2016.
- [100] M. Mc Crudden, C. Irwin, I. El Karim, G. Linden und F. Lundy, „Matrix metalloproteinase-8 activity in gingival crevicular fluid: development of a novel assay,“ J Periodontal Res., 2016.

- [101] S. Gul, C. Douglas, G. Griffiths und A. Rawlinson, „A pilot study of active enzyme levels in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontal disease.“ J Clin Periodontol., 2016.
- [102] T. Sorsa, U. Gursoy, S. Nwhator, M. Hernandez, T. Tervahartiala, J. Leppilahti, M. Gursoy, E. Könönen, G. Emingil, P. Pussinen und P. Mäntylä, „Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases.“ Periodontol 2000., 2016.
- [103] E. Mouzakiti, E. Pepelassi, G. Fanourakis, C. Markopoulou, S. Tseleni-Balafouta und I. Vrotsos, „Expression of MMPs and TIMP-1 in smoker and nonsmoker chronic periodontitis patients before and after periodontal treatment.“ J Periodontal Res., 2012.
- [104] C. Figueredo, A. Areas, L. Miranda, R. Fischer und A. Gustafsson, „The short-term effectiveness of non-surgical treatment in reducing protease activity in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients.“ J Clin Periodontol., 2004.
- [105] T. Sorsa, T. Tervahartiala, J. Leppilahti, M. Hernandez, J. Gamonal, A. Tuomainen, A. Lauhio, P. Pussinen und P. Mäntylä, „Collagenase-2 (MMP-8) as a point-of-care biomarker in periodontitis and cardiovascular diseases. Therapeutic response to non-antimicrobial properties of tetracyclines.“ Pharmacol Res., 2011.
- [106] S. Lamparter und B. Maisch, „Bedeutung von Matrix Metalloproteinasen bei kardiovaskulären Erkrankungen.“ *Zeitschrift für Kardiologie*, Nr. 10, p. 949–57, 10 2000.
- [107] J. Bergström, „Tobacco smoking and chronic destructive periodontal disease.“ Odontology, 2004.
- [108] J. Haber, J. Wattles, M. Crowley, R. Mandell, K. Joshipura und R. Kent, „Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis.“ J Periodontol, 1993.

- [109] E. Mouzakioti, E. Pepelassi, G. Fanourakis, C. Markopoulou, S. Tseleni-Balafouta und I. Vrotsos, „The effect of smoking on the mRNA expression of MMPs and TIMP-1 in untreated chronic periodontitis patients: a cross-sectional study,“ J Periodontal Res., 2011.
- [110] K. Viswanath, R. Herbst, S. Land, S. Leischow, P. Shields und W. C. f. t. A. T. F. o. T. a. Cancer, „Tobacco and cancer: an American Association for Cancer Research policy statement,“ Cancer Res., 2010.
- [111] S. Kang, H. Park, J. Ban, J. Chung, G. Chun und J. Cho, „Effects of nicotine on apoptosis in human gingival fibroblasts,“ Arch Oral Biol., 2011.
- [112] T. Dietrich, J. Bernimoulin und R. Glynn, „The effect of cigarette smoking on gingival bleeding,“ J Periodontol, 2004.
- [113] P. Kumar, C. Matthews, V. Joshi, M. de Jager und M. Aspiras, „Tobacco smoking affects bacterial acquisition and colonization in oral biofilms,“ Infect Immun, 2011.
- [114] M. Xu, J. Scott, K. Liu, H. Bishop, D. Renaud, R. Palmer, A. Soussi-Gounni und D. Scott, „The influence of nicotine on granulocytic differentiation - inhibition of the oxidative burst and bacterial killing and increased matrix metalloproteinase-9 release,“ BMC Cell Biol., 2008.
- [115] M. Ah, G. Johnson, W. Kaldahl, K. Patil und K. Kalkwarf, „The effect of smoking on the response to periodontal therapy,“ J Clin Periodontol., 1994.
- [116] J. Bergström, „Periodontitis and smoking: an evidence-based appraisal,“ J Evid Based Dent Pract, 2006.
- [117] L. Heasman, F. Stacey, P. Preshaw, G. McCracken, S. Hepburn und P. Heasman, „The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence,“ J Clin Periodontol., 2006.
- [118] E. Ragnarsson, S. Elíasson und S. Olafsson, „Tobacco smoking, a factor in tooth loss in Reykjavík, Iceland,“ Scand J Dent Res, 1992.

- [119] T. Dietrich, C. Walter, K. Oluwagbemigun, M. Bergmann, T. Pischon, N. Pischon und H. Boeing, „Smoking, Smoking Cessation, and Risk of Tooth Loss: The EPIC-Potsdam Study,“ J Dent Res., 2015.
- [120] W. H. Organization, „Global Report on Diabetes,“ 2016.
- [121] E. Siegel und T. Kocher, „Deutscher Gesundheitsbericht - Diabetes 2016,“ diabetesDE – Deutsche Diabetes-Hilfe und Deutsche Diabetes Gesellschaft (DDG), 2016.
- [122] G. Salvi, B. Carollo-Bittel und N. Lang, „Effects of diabetes mellitus on periodontal and periimplant conditions: Update on associations and risks,“ J Clin Periodontol., 2008.
- [123] S. Grossi und R. Genco, „Periodontal disease and diabetes mellitus: A two way realationship,“ Ann Periodontol., 1998.
- [124] S. Jepsen, M. Kebschull und J. Deschner, „Wechselwirkungen zwischen Parodontitis und systemischen Erkrankungen,“ Springer Verlag, 2011.
- [125] J. Deschner, T. Haak, S. Jepsen, T. Kocher, H. Mehnert, J. Meyle, P. Schumm-Draeger und D. Tschöpe, „Diabetes mellitus and periodontitis. Bidirectional relationship and clinical implications. A consensus document,“ Internist (Berl)., 2011.
- [126] G. Taylor, B. Burt, M. Becker, R. Genco, M. Shlossman, W. Knowler und D. Pettitt, „Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years,“ J Periodontol., 1998.
- [127] M. Ogata, R. Ide, M. Takizawa, M. Tanaka, T. Tetsuo, A. Sato, N. Iwasaki und Y. Uchigata, „Association between basal metabolic function and bone metabolism in postmenopausal women with type 2 diabetes,“ Nutrition., 2015.
- [128] C. Rosenberg, „Wound healing in the patient with diabetes mellitus,“ Nurs Clin North Am., 1990.
- [129] C. L. Morain WD, „Wound healing in diabetes mellitus,“ Clin Plast Surg., 1990.

- [130] M. Mousley, „Diabetes and its effect on wound healing and patient care,“ Nurs Times., 2003.
- [131] I. Lamster, Lalla, E, W. Borgnakke und G. Taylor, „The relationship between oral health and diabetes mellitus.,“ J Am Dent Assoc., 2008.
- [132] M. Ryan, O. Carnu und A. Kamer, „The influence of diabetes on the periodontal tissues.,“ J Am Dent Assoc., 2003.
- [133] M. Christgau, K. Palitzsch, G. Schmalz, U. Kreiner und S. Frenzel, „Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and immunologic results,“ J Clin Periodontol., 1998.
- [134] E. Lalla, C. Kunzel, S. Burkett, B. Cheng und I. Lamster, „Identification of unrecognized diabetes and pre-diabetes in a dental setting.,“ J Dent Res., 2011.
- [135] E. Lalla, B. Cheng, C. Kunzel, S. Burkett, A. Ferraro und I. Lamster, „Six-month outcomes in dental patients identified with hyperglycaemia: a randomized clinical trial.,“ J Clin Periodontol, 2015.
- [136] W. Shultis, E. Weil, o. H. L, J. Curtis, M. Shlossman, R. Genco, W. Knowler und N. RG, „Effect of periodontitis on overt nephropathy and end-stage renal disease in type 2 diabetes.,“ Diabetes Care., 2007.
- [137] H. Thorstensson, J. Kuylenstierna und A. Hugoson, „Medical status and complications in relation to periodontal disease experience in insulin-dependent diabetics.,“ J Clin Periodontol., 1996.
- [138] D. Ting, Tan, KA, V. Phua, G. Tan, C. Wong und T. Wong, „Biomarkers of Diabetic Retinopathy,“ Curr Diab Rep., 2016.
- [139] K. Dresing, „Diabetisches Fußsyndrom,“ Oper Orthop Traumatol, 2016.
- [140] P. Preshaw, A. Alba, D. Herrera, S. Jepsen, A. Konstantinidis, K. Makrilakis und R. Taylor, „Periodontitis and diabetes: a two-way relationship,“ Diabetologia., 2012.
- [141] G. Herold, Innere Medizin 2017, Herold, Gerd (Verlag), 2016, p. 727.

- [142] G. Gabriëls, „Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 mit oralen Diabetika,“ [Online]. Available: http://www.klinikum.uni-muenster.de/fileadmin/ukminternet/daten/kliniken/medd/Z_Alte_Dateien/Standards/Therapie_des_DM_II_mit_OAD.pdf. [Zugriff am 03 11 2016].
- [143] P. Eickholz, „PSI und Sondierungsparameter,“ in *Parodontologie von A - Z*, Quintessenz, 2013, p. 58.
- [144] „<http://www.dcd.hr>,“ [Online]. Available: <http://www.dcd.hr/de/zahnmedizin/parodontologie>. [Zugriff am 11 11 2016].
- [145] T. Beikler, H. Karch und T. Flemmig, „Adjuvante Antibiotika in der Parodontitistherapie,“ Deutsche Gesellschaft für Zahn- Mund- und Kieferheilkunde, 2003.
- [146] J. Kleinfelder, R. Mueller und D. Lange, „Fluoroquinolones in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis,“ *J Periodontol.*, 2000.
- [147] S. Abu Fanas, D. Drucker und P. Hull, „Amoxycillin with clavulanic acid and tetracycline in periodontal therapy,“ *J Dent.*, 1991.
- [148] S. Abu-Fanas, D. Drucker, P. Hull, J. Reeder und L. Ganguli, „Identification, and susceptibility to seven antimicrobial agents, of 61 gram-negative anaerobic rods from periodontal pockets,“ *J Dent.*, 1991.
- [149] T. Berglundh, L. Krok, B. Liljenberg, E. Westfelt, G. Serino und J. Lindhe, „The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial,“ *J Clin Periodontol.*, 1998.
- [150] P. Gilbert, J. Das und I. Foley, „Biofilm susceptibility to antimicrobials,“ *Adv Dent Res.*, 1997.
- [151] T. Beikler, H. Karch und T. Flemmig, „Mikrobiologische Diagnostik in der Parodontitistherapie - Gemeinsame Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie und der Deutsche Gesellschaft für Zahn- Mund- und Kieferheilkunde,“ 2005.

- [152] E. Figuero, D. Nóbrega, M. García-Gargallo, L. Tenuta, H. D und J. Carvalho, Mechanical and chemical plaque control in the simultaneous management of gingivitis and caries: a systematic review, *J Clin Periodontol.*, 2017, pp. 116-34.
- [153] M. Jafer, S. Patil, J. Hosmani, S. Bhandi, E. Chalisserry und S. Anil, Chemical Plaque Control Strategies in the Prevention of Biofilm-associated Oral Diseases, *J Contemp Dent Pract.*, 2016, pp. 337-43.
- [154] F. Van der Weijden, E. Van der Sluijs, S. Ciancio und D. Slot, Can Chemical Mouthwash Agents Achieve Plaque/Gingivitis Control?, *Dent Clin North Am.*, 2015, pp. 799-829.
- [155] M. Hosamane, A. Acharya, C. Vij, D. Trivedi, S. Setty und S. Thakur, Evaluation of holy basil mouthwash as an adjunctive plaque control agent in a four day plaque regrowth model, *J Clin Exp Dent.*, 2014, pp. 491-6.
- [156] L. da Costa, C. Amaral, D. Barbirato, A. Leão und M. Fogacci, Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: A meta-analysis, *J Am Dent Assoc.*, 2017, pp. 308-18.
- [157] T. Mah und G. O'Toole, „Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents,“ *Trends Microbiol.*, 2001.
- [158] D. G. f. Parodontologie, „www.dgparo.de,“ Deutsche Gesellschaft für Parodontologie e.V., [Online]. Available: http://www.dgparo.de/parodontitis/parodontitis_therapie. [Zugriff am 16 07 2017].
- [159] P. Mäntylä, M. Stenman, D. Kinane, T. Salo, K. Suomalainen, S. Tikanoja und T. Sorsa, „Monitoring periodontal disease status in smokers and nonsmokers using a gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8-specific chair-side test,“ 2006.
- [160] L. Golub, T. Sorsa, H. Lee, S. Ciancio, D. Sorbi, N. Ramamurthy, B. Gruber, T. Salo und Y. Konttinen, „Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva,“ *J Clin Periodontol.*, 1995.

- [161] E. Winkel, A. van Winkelhoff, D. Barendregt, G. van der Weijden, M. Timmerman und U. van der Velden, „Clinical and microbiological effects of initial periodontal therapy in conjunction with amoxicillin and clavulanic acid in patients with adult periodontitis. A randomised double-blind, placebo-controlled study,“ J Clin Periodontol., 1999.
- [162] A. van Winkelhoff und E. Winkel, „Antibiotics in periodontics: right or wrong?,“ J Periodontol., 2009.
- [163] I. Mdala, A. Haffajee, S. Socransky, B. de Blasio, M. Thoresen, I. Olsen und J. Goodson, „Multilevel analysis of clinical parameters in chronic periodontitis after root planing/scaling, surgery, and systemic and local antibiotics: 2-year results,“ J Oral Microbiol, 2012.
- [164] J. Kestra, I. Grosjean, W. Coucke, M. Quirynen und W. Teughels, „Non-surgical periodontal therapy with systemic antibiotics in patients with untreated chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis,“ J Periodontal Res., 2015.
- [165] A. van Winkelhoff, T. Rams und J. Slots, „Systemic antibiotic therapy in periodontics,“ Periodontol 2000, 1996.
- [166] D. Herrera, M. Sanz, S. Jepsen, I. Needleman und S. Roldán, „A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients,“ J Clin Periodontol., 2002.
- [167] H. Jentsch, A. Buchmann, A. Friedrich und S. Eick, „Nonsurgical therapy of chronic periodontitis with adjunctive systemic azithromycin or amoxicillin/metronidazole,“ Clin Oral Investig., 2016.
- [168] J. König, H. Plagmann, N. Langenfeld und T. Kocher, „Retrospective comparison of clinical variables between compliant and non-compliant patients,“ J Clin Periodontol., 2001.
- [169] P. Eickholz, J. Kaltschmitt, J. Berbig, P. Reitmeir und B. Pretzl, „Tooth loss after active periodontal therapy. 1: patient-related factors for risk, prognosis, and quality of outcome,“ J Clin Periodontol., 2008.

- [170] W. M. A. (WMA), „WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects,“ 2013.
- [171] P. Hornbeck, S. Winston und S. Fuller, „Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA),“ Curr Protoc Mol Biol., 2001.
- [172] J. Crowther, The ELISA Guidebook - Second Edition, Humana Press, 2009.
- [173] D. Kemeny, R. Urbanek, D. Samuel und D. Richards, „Increased sensitivity and specificity of a sandwich ELISA for measurement of IgE antibodies,“ 1985.
- [174] B. Lener, „Science ORF.at,“ ORF, 05 11 2012. [Online]. Available: <http://sciencev2.orf.at/stories/v2static/storyimages/site/science/20121044/elisa.jpg>. [Zugriff am 03 10 2016].
- [175] M. Rajendran, T. K. Jaishree und L. Nallasivam, „Polymerase chain reaction: A molecular diagnostic tool in periodontology,“ J Indian Soc Periodontol., 2016.
- [176] D. G. f. P. e. V., „DG Paro,“ Deutsche Gesellschaft für Parodontologie e. V., 22 09 2016. [Online]. Available: http://www.dgparo.de/presse/presse_detail/article-57e392fde67e6. [Zugriff am 22 11 2017].
- [177] T. Sorsa, M. Hernández, J. Leppilahti, S. Munjal, L. Netuschil und P. Mäntylä, „Detection of gingival crevicular fluid MMP-8 levels with different laboratory and chair-side methods.,“ Oral Dis., 2010.
- [178] I. Tchetverikov, H. Ronday, B. Van El, G. Kiers, N. Verzijl, J. TeKoppele, T. Huizinga, J. DeGroot und R. Hanemaaijer, „MMP profile in paired serum and synovial fluid samples of patients with rheumatoid arthritis,“ Ann Rheum Dis., 2004.
- [179] A. Lauhio, F. E. K. Pietiläinen, P. Åström, A. Winkelmann, T. Tervahartiala, E. Pirilä, A. Rissanen, J. Kaprio, T. Sorsa und T. Salo, „Association of MMP-8 with obesity, smoking and insulin resistance,“ Eur J Clin Invest., 2016.

- [180] A. Heikkinen, S. Nwhator, N. Rathnayake, P. Mäntylä, P. Vatanen und T. Sorsa, „Pilot Study on Oral Health Status as Assessed by an Active Matrix Metalloproteinase-8 Chairside Mouthrinse Test in Adolescents,“ *Journal of Periodontology*, 2016.
- [181] P. Mäntylä, M. Stenman, D. Kinane, S. Tikanoja, H. Luoto, T. Salo und T. Sorsa, „Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis,“ *J Periodont Res.*, 2003.
- [182] d. GmbH, „Interdisziplinäres Netzwerk für Medizin und Zahnmedizin,“ dentognostics GmbH, [Online]. Available: <http://www.periopreventionnetwork.com/home-2/periosafe/>. [Zugriff am 25 11 2017].
- [183] A. Raitio, H. Tuomas, N. Kokkonen, T. Salo, S. Timo, T. Sorsa, R. Hanemaaijer und A. Oikarinen, „Levels of matrix metalloproteinase-2, -9 and -8 in the skin, serum and saliva of smokers and non-smokers,“ *Archives of Dermatological Research*, Bd. 297, p. 242–248, 2005.
- [184] E. Winkel, A. van Winkelhoff und U. van der Velden, „Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy,“ *J Clin Periodontol*, 1998.
- [185] E. Winkel, A. Van Winkelhoff, M. Timmerman, U. Van der Velden und G. Van der Weijden, „Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study,“ *J Clin Periodontol.*, 2001.

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: modifiziertes "critical pathway modell" nach Salvi et al., 1997 Abbildung modifiziert erstellt nach [34]	8
Abb. 2: Ausbildung des dentalen Biofilms. a) Frühkolonisierer heften sich mittels Fimbrien an die Pellikel an. b) Die Bakterien vermehren sich, produzieren die Matrix und bilden so Mikrokolonien. Gleichzeitig integrieren sich weitere Brückenspezies. c) Stark pathogene Bakterien des Roten Komplexes und <i>A. actinomycetemcomitans</i> binden an den Biofilm. Dieser wächst weiter und reift. d) Biofilmmreifung endet in einer „Climax Community“. Bakterien lösen sich aus dem Biofilm und besiedeln weitere Zahnflächen. [41]	9
Abb. 3: Bakterienkomplexe nach Socransky. Basierend auf dem gemeinsamen Vorkommen und der Interaktion bestimmter Bakterienspezies werden die MarkerBakterien zu Komplexen zusammengefasst. [26] Abbildung übernommen aus [60]	10
Abb. 4: Verlauf der parodontalen Entzündungsantwort durch das Verhältnis pro- und antientzündlicher Zytokine. Erkennung und Phagozytose der parodontopathogenen Bakterien wird unterstützt durch die Beladung der Bakterien mit körpereigenen Opsoninen (IgA, MBL, etc). Abbildung übernommen aus [95]	13
Abb. 5: Sondierung des Sulkus bei verschiedenen Stadien von Parodontopathien. Abbildung übernommen aus [144]	16
Abb. 6: Schematischer Ablauf einer systematischen Parodontitis-Therapie, vgl. [167]	19
Abb. 7: Schematische Darstellung des Sandwich-ELISA Verfahrens. Abbildung übernommen aus [173]	26
Abb. 8: Sondierungstiefen gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung ($p=0,000$)	38
Abb. 9: Vergleich Sondierungstiefen initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen ($p=0,000$) vs. Männer ($p=0,000$)	39
Abb. 10: Vergleich Sondierungstiefen initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ($p=0,001$) vs. Nichtraucher ($p=0,000$)	40
Abb. 11: Blutungsneigung bei Sondierung gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung ($p=0,000$)	40
Abb. 12: Blutungsneigung bei Sondierung; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen ($p=0,000$) vs. Männer ($p=0,006$)	41
Abb. 13: Blutungsneigung bei Sondierung initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ($p=0,037$) vs. Nichtraucher ($p=0,000$)	42

Abb. 14: Plaque, gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung (p=0,012)	42
Abb. 15: Plaque; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen (p=0,168) vs. Männer (p=0,022)	43
Abb. 16: Plaque; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher (p=0,305) vs. Nichtraucher (p=0,017)	44
Abb. 17: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; alle Patienten	45
Abb. 18: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Männer ...	45
Abb. 19: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen	46
Abb. 20: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher ..	46
Abb. 21: Positive Befunde der PA-Bakterien, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Nichtraucher	47
Abb. 22: SP-D, gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung (p=0,999)	48
Abb. 23: SP-D; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen (p=0,563) vs. Männer (p=0,550)	49
Abb. 24: SP-D; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher (p=0,384) vs. Nichtraucher (p=0,530)	50
Abb. 25: MMP-8, gesamt; initial vs. 1. Nachuntersuchung (p=0,927)	50
Abb. 26: MMP-8, initial vs. 1. Nachuntersuchung; Frauen (p=0,864) vs. Männer (p=0,777)	51
Abb. 27: MMP-8; initial vs. 1. Nachuntersuchung; Raucher (p=0,720) vs. Nichtraucher (p=0,707)	52

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: schematische Darstellung eines Belegungsplans zum MMP-8 Test	27
Tabelle 2: Verdünnungsreihe des Master Standard	29
Tabelle 3: schematische Darstellung eines Belegungsplans zum SP-D Test	30
Tabelle 4: Belegung des Probenmaterials	34
Tabelle 5: Programmierung des BioRaid	34
Tabelle 6: Studienpopulation, initiale Untersuchung	37
Tabelle 7: Studienpopulation, 1. Nachuntersuchung.....	37

10 Abkürzungsverzeichnis

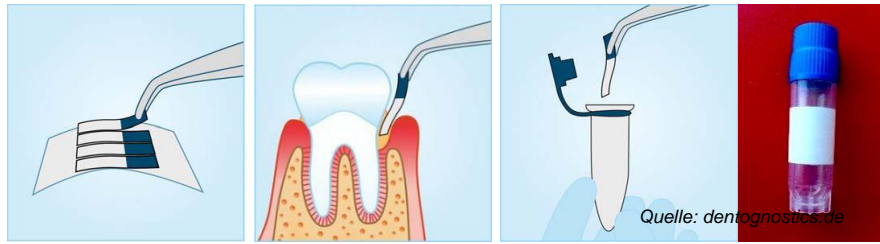
A.a.	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
ANOVA	ANalysis Of VAriance
BOP	Bleeding on probing
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
etc.	et cetera
F.n.	Fusobacterium nucleatum
ggf.	gegebenenfalls
GCF	Gingival crevicular fluid
GKV	Gesetzliche Krankenversicherung
HbA1c	Hb = Hämoglobin A = Typbezeichnung des Hämoglobins 1 = gibt Zuckerbindung des Hb an c = Bindungsstelle des Zuckers
HIV	Human Immunodeficiency Virus
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
mm	Millimeter
MMP-8	Matrix-Metalloproteinase 8
MTA	Medizinisch-Technische Assistenz
N	Newton
ng/ml	Nanogramm pro Milliliter
OPG	Orthopantomogramm

PA	Parodontitis
PCR	Polymerase Chain Reaction
P.g.	Porphyromonas gingivalis
P.i.	Prevotella intermedia
PKV	Private Krankenversicherung
P.m.	Parvimonas micra
PSA	Panoramaschichtaufnahme
PSI	Parodontaler Screening Index
RC	Recall
SP-D	Surfactant Protein D
ST	Sondierungstiefe
u.a.	unter anderem
T.d.	Treponema denticola
T.f.	Tannerella forsythia
TIMP	Tissue inhibitors of metalloproteinase
UPT	Unterstützende Parodontal-Therapie
vs.	versus
WHO	World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel

11 Anhang

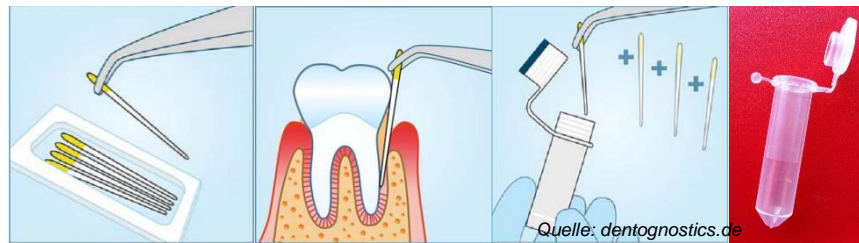
11.1 Anleitung zur Probenentnahme

1. Jeder Patient muss vor der Probenentnahme eine Einverständniserklärung unterschreiben.
2. Ausfüllen des Fragebogens.
3. Speichelentnahme (analog dem MMP-8-Schnelltest)
 - Den Mund mit Leitungswasser 30 s lang ausspülen, danach Wasser ausspucken.
 - Eine Minute warten.
 - Die Flüssigkeit vollständig in den beigegefügtten Becher geben.
 - 30 s mit der Flüssigkeit Mund, Zähne und Zahnfleischräume intensiv spülen. Nicht gurgeln!
 - Die Mundspüllösung soll vollständig in den Becher zurückgespuckt werden.
 - Die Mundspüllösung aus dem Becher in das 50 ml Röhrchen füllen.
 - Beschriften der Tüte, Einverständniserklärung und Fragebogen mit Patientennamen und Geburtsdatum
4. Entnahme der Sulkusflüssigkeit:
 - Nach dem PA-Befund
 - Entnahme mit sterilen GCF-Streifen in jedem Quadranten aus der tiefsten PA-Tasche
 - Entnahmestelle und Uhrzeit im PA-Programm unter Befund
Plaqueindex/Blutungsindex notieren
 - Relative Trockenlegung, Zahn vom Speichel befreien, nicht übertrocknen.
 - GCF-Streifen mit Pinzette am blauen Ende anfassen und vom Träger abziehen.
 - GCF-Streifen mit dem weißen Ende ca. 1-2 mm in den Sulkus einführen.
 - GCF-Streifen 30 Sekunden im Sulkus belassen.
 - GCF-Streifen entnehmen und in Kryoröhrchen (mit dem blauen Deckel) geben.
 - Für die GCF-Streifen 2 bis 4 analog verfahren und in Kryoröhrchen (dasselbe wie vorher) geben.



5. Entnahme der Bakterienprobe

- Nach der Entnahme der Sulkusflüssigkeit.
- Entnahme mit sterilen Papierspitzen (ISO40) an der gleichen Stelle wie die Sulkusflüssigkeit.
- Die Papierspitze für 10 Sekunden bis auf den Taschenfundus einführen.
- Die Papierspitze entnehmen und in ein Reagenzröhrchen einlegen.
- Für die Papierspitze 2 bis 4 analog verfahren.



6. Blutentnahme durch Frau Hackl.

Alle Proben müssen nach der Entnahme in der Kühlbox (Raum C0.31 PC-Eingabe-Studenten) gelagert werden!!!

11.2 Informationsblatt für Patienten

Ludwig-Maximilians-Universität
München
Medizinische Fakultät - Klinikum Innenstadt



Poliklinik
für Zahnerhaltung und Parodontologie
Direktor: Prof. Dr. Reinhard Hickel

Informationsblatt und Einverständniserklärung zur wissenschaftlichen Studie zur „Charakterisierung von Markermolekülen zur Diagnose und Verlaufskontrolle der marginalen Parodontitis“ (Studienleiter: Prof. Dr. Dr. M. Folwaczny)

Liebe Patientin,
lieber Patient!

Ein großer Teil der Bevölkerung leidet an einer chronischen Entzündung des Zahnfleisches ("Parodontose"). Zahnfleiscentzündungen werden durch Bakterien ausgelöst, die sich durch Zahnbeläge in den Zahnfleischtaschen vermehren können. Ohne eine geeignete zahnärztliche Therapie führt die Erkrankung zum irreversiblen Verlust des Zahnhalteapparates. Nach einem meist mehrjährigen Verlauf lockert sich der Zahn und fällt schließlich aus. Wird die Erkrankung rechtzeitig erkannt, ist in den meisten Fällen eine Behandlung mit gutem Erfolg möglich.

Bislang stehen für die Diagnose von entzündlichen Parodontalerkrankungen ausschließlich klinische und röntgenologische Parameter zur Verfügung. Zur Verbesserung der Diagnose sowie zur Kontrolle des Verlaufs von Parodontalerkrankungen könnten zukünftig biologische (laborchemische) Verbindungen herangezogen werden. Diese biologischen Verbindungen könnten entweder im Speichel oder im Blut der Patienten angetroffen werden. Zur Suche dieser für die parodontalen Diagnose geeigneten biologischen Verbindungen wird an der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Universität München eine

wissenschaftliche Studie durchgeführt. Im Rahmen dieser Studie sollen insbesondere Unterschiede in der körpereigenen Produktion dieser biologischen Verbindungen bei Patienten mit Zahnfleischentzündung und Menschen ohne Zahnfleischentzündung bestimmt und die Änderung der Produktion dieser Moleküle im Verlauf der Behandlung der Parodontalerkrankung beobachtet werden.

Zur Durchführung dieser Studie benötigen wir Blut- und Speichelproben sowie Bakterienabstriche und Proben der Flüssigkeit aus Zahnfleischtaschen (sogenannte „Sulcusflüssigkeit“) von Patienten mit einer Zahnfleischentzündung und von Menschen, die keine parodontale Erkrankung haben. Da Sie für die Teilnahme an der Studie geeignet wären, würden wir gerne auch bei Ihnen eine Blutprobe (30 ml) aus einer Vene im Bereich der Ellenbeuge am rechten oder linken Arm sowie eine Speichelprobe entnehmen. Die Entnahme der verschiedenen Proben (Blut, Speichel, Bakterien, Sulcusflüssigkeit) sowie die anschließende labortechnische Untersuchung dient weder der Diagnose noch der Therapie einer bei Ihnen bestehenden Erkrankung der Zähne oder des Zahnfleisches. Die Probenentnahme bringt für Sie also keinen persönlichen Nutzen. Deshalb müssen Sie zuvor der Entnahme der Proben zustimmen.

In den Proben von Blut, Speichel und Sulcusflüssigkeit wird die Konzentration verschiedener biologischer Verbindungen bestimmt, die im Zusammenhang mit einer entzündlichen Parodontalerkrankung stehen. Unter anderem sollen derzeit folgende Moleküle untersucht werden: alkalische Phosphatase, Osteokalzin, Osteonektin, Osteopontin, Kollagen Telopectidasen, Matrixmetalloproteinasen (Typ 8, 9, 13), hepatocyte-growth factor, Interleukin 1 β , Surfactant-Protein-D, IgG (*P. gingivalis*), IgG (*C. rectus*), IgG (*A. Actinomycescomitans*). Die Bakterienprobe dient der Untersuchung von Erregern von entzündlichen Parodontalerkrankungen. Unter anderem ist momentan geplant, Bakterien mit den wissenschaftlichen Namen *Aggregatibacter actinomycescomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Tannerella forsythia* zu bestimmen.

Wie viele und welche Faktoren bzw. Bakterien später noch in den von uns gesammelten Proben untersucht werden, ist im Augenblick noch nicht sicher abzuschätzen und richtet sich vor allem auch nach den zukünftigen Ergebnissen der parodontologischen Forschung. Es werden in jedem Fall ausschließlich biologische Verbindungen untersucht, für die ein Zusammenhang mit einer Parodontalerkrankung bestehen könnte.

Grundsätzlich unterliegen alle im Rahmen der Studie gewonnenen Proben und Daten der ärztlichen Schweigepflicht und werden nur verschlüsselt („pseudonymisiert“) ausgewertet, wodurch nur dem Studienleiter eine Zuordnung der Proben bzw. der gefundenen Daten zu einzelnen Patienten möglich ist. Die Zuordnung erfolgt außerdem nur, falls die Klärung einer während der Studie auftretenden wissenschaftlichen Fragestellung (z.B. Einfluss von bestimmten Medikamenten auf die Stärke der körpereigenen Produktion von diagnostisch zu verwendbaren biologischen Verbindungen) dies erforderlich macht. Auch in diesen Fällen werden die Daten ausschließlich verschlüsselt, ohne Bezug zu einer bestimmten Person an Dritte, die an der Auswertung der Studie beteiligt sind, weitergegeben. Die Pseudonymisierung erfolgt durch Zuordnung einer neutralen, individuellen Probandennummer zu jeder Probe (Blut, Speichel, Sulcusflüssigkeit, Bakterien). Die Proben werden nach der Entnahme gelagert und nach Ablauf von fünf Jahren vernichtet. Ein Rücktritt von der Teilnahme an der Studie ist **jederzeit und ohne Angabe von Gründen** möglich. Auf Antrag wird in diesem Fall das gewonnene Probenmaterial ausgehändigt oder vernichtet. Die mit Hilfe des Probenmaterials gewonnenen Daten werden auf Wunsch ebenfalls unwiderruflich gelöscht.

Für die Teilnehmer an der Studie ist keine spezielle Probandenversicherung abgeschlossen worden.

Dieser Aufklärungsbogen ersetzt natürlich nicht das persönliche Gespräch mit Ihnen. Er soll Ihnen vielmehr erste Informationen für das noch stattfindende Aufklärungsgespräch geben. Sollten Sie noch weitere Fragen haben sind wir gerne bereit diese zu beantworten.

Sollten Sie noch Fragen haben oder nach der Behandlung Beschwerden auftreten, können sie die/den behandelnde(n) Zahnärztin/Zahnarzt Frau/Herrn unter der Telefonnummer 089/5160-93__ erreichen.

11.3 Einverständniserklärung

Nach eingehender Aufklärung erkläre ich mich zur Teilnahme an der oben genannten Studie bereit. Mir ist bekannt, daß die Blut- und Speichelentnahme im Rahmen einer wissenschaftlichen Studie stattfindet, ausschließlich wissenschaftlichen Zwecken dient und nicht zur Therapie einer bei mir bestehenden Zahnerkrankung beiträgt. Meine Fragen wurden vollständig und umfassend durch den/die aufklärende(n) Ärztin/Arzt beantwortet. Ich kann mein einmal gegebenes Einverständnis jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen. Auf Antrag wird in diesem Fall das gewonnene Probenmaterial ausgehändigt oder vernichtet.

München, den _____

(Unterschrift der/des Patientin/en)

(Unterschrift der/des aufklärenden Ärztin/Arztes)

11.4 Datenschutz

Bei dieser Studie werden die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz eingehalten. Es werden persönliche Daten und Befunde über Sie erhoben, gespeichert und verschlüsselt (pseudonymisiert), d.h. weder Ihr Name noch Ihre Initialen oder das exakte Geburtsdatum erscheinen im Verschlüsselungscode, weitergegeben. Im Falle des Widerrufs Ihrer Einwilligung werden die pseudonymisiert gespeicherten Daten vernichtet. Der Zugang zu den Originaldaten und zum Verschlüsselungscode ist auf folgende Personen beschränkt: Prof. Dr. Dr. M. Folwaczny. Die Unterlagen werden in der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Klinikum der Universität München, Goethestr. 70, 80336 München für 10 Jahre aufbewahrt. Eine Entschlüsselung erfolgt lediglich in Fällen, in denen es Ihre eigene Sicherheit erfordert („medizinische Gründe“) oder falls es zu Änderungen in der wissenschaftlichen Fragestellung kommt („wissenschaftliche Gründe“).

Im Falle von Veröffentlichungen der Studienergebnisse bleibt die Vertraulichkeit der persönlichen Daten gewährleistet.

Ich bin mit der Erhebung und Verwendung persönlicher Daten und Befunddaten nach Maßgabe der Patienteninformation einverstanden.

München, den _____

(Unterschrift der/des Patientin/en)

(Unterschrift der/des aufklärenden Ärztin/Arztes)

12 Danksagung

Kapitel 12. Danksagung. Wahnsinn.

Niemals wäre ich so weit gekommen, ohne Menschen, die mit mir dieses Projekt durchlebt und bewältigt haben. Zu allererst möchte ich meiner lieben und hilfsbereiten Betreuerin Dr. Christina Ern danken, der ich diese Dissertation auch verdanke. Ich habe im Laufe der Arbeit zu schätzen gelernt, wie unfassbar wertvoll und nicht selbstverständlich es ist, auf jede E-Mail eine zügige Antwort zu erhalten. Des Weiteren möchte ich meiner treuen „Labor-Seele“ Brigitte Hackl für Ihre wahnsinnige Geduld, Hilfsbereitschaft und Ihren stets warmen Worten danken. Ohne sie wären die langen Stunden im Labor triste und eintönig geworden. Auch Ihr gebührt ein außerordentlicher Dank für die schnelle Reaktionszeit auf Emails, trotz aufgetretenen Outlook-Problemen.

Hier sei auch mein Doktorvater Prof. Matthias Folwaczny erwähnt, bei dem ich mich ausdrücklich für die Auswertung der Statistik bedanken möchte und dass er es überhaupt erst ermöglicht hat, diese zeit- und kostenintensive Studie durchzuführen. Ebenso gilt auch ihm der Dank für die wirklich angenehme und unkomplizierte Betreuung.

Mein privates Umfeld hat in diesen langen Monaten (gefühlte Jahrzehnte) der Fertigstellung ebenfalls gelitten, v.a. gilt hier ein außerordentlicher Dank meinem unermüdlichen, geduldigen, liebevollen und immer mit Rat und Tat zur Seite stehenden Ehemann, der mich mehr als einmal ermutigt hat, „das Ding“ jetzt endlich durchzuziehen. („Ist doch im Endeffekt nur ein Word-Dokument!“ – aber was für Eines!!!). Hier sei auch meinen Eltern gedankt, die mich immer wieder erfolgreich auf den Boden der Tatsachen und in die reale Welt zurückgeholt haben.

Zu aller Letzt möchte ich meinen Dank der Zunft der Winzer aussprechen, ohne deren Handwerkskunst ich diverse Abende gefüllt mit Recherche nicht so leicht und angenehm überstanden hätte.

Amen.

13 Eidesstattliche Versicherung

Petra Sophie Volz

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich mich mit der vorliegenden Arbeit

"Vergleich der Konzentration von MMP-8 und Surfactant Protein D im Blut bei der ersten Nachuntersuchung von Parodontitispatienten im Vergleich zur Initialtherapie"

erstmals um die Erlangung des Doktorgrades bewerbe.

Ich habe die Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Quellen angefertigt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche gekennzeichnet.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Bichl, 21.09.2020

Petra Sophie Volz